

Actividad insecticida de extractos de semilla de *Annona muricata* (Anonaceae) sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)

Insecticidal activity of *Annona muricata* (Anonaceae) seed extracts on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)

CARLOS AUGUSTO HINCAPIÉ LLANOS¹, DAVID LOPERA ARANGO², MARILUZ CEBALLOS GIRALDO³

Resumen: El gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* es una plaga muy importante a nivel mundial que causa grandes daños a granos almacenados ocasionando elevadas pérdidas económicas. En este estudio se evaluó el efecto insecticida de extractos de semilla de *Annona muricata* L. (guanábana). Los extractos fueron obtenidos con hexano (apolar), acetato de etilo (medianamente polar) y etanol (polar), y estos fueron aplicados sobre adultos de *S. zeamais*, por medio de ingestión y aplicación topical. También se evaluó la emergencia de nuevos adultos en semillas de maíz tratadas con los extractos. La CL₅₀ (concentración letal media) obtenida en los bioensayos de ingestión para el extracto hexánico fue de 4.009, 3.854 y 3.760 ppm a las 24, 48 y 72 horas respectivamente. Para el extracto obtenido con acetato de etilo fue de 3.280, 2.667 y 2.542 ppm en los mismos tiempos. La CL₅₀ del extracto hexánico en aplicación topical fue de 9.368 ppm a las 72 horas. Los demás extractos en ambos bioensayos presentaron muy poca actividad. La emergencia se inhibió en 100% a partir de las concentraciones de 2.500 ppm para los extractos obtenidos con acetato de etilo y hexano y de 5.000 ppm para los obtenidos con alcohol etílico. El efecto insecticida de los extractos etanólicos es discutido dada su baja efectividad. Los extractos son más efectivos por ingestión que por contacto. El efecto insecticida es causado probablemente por la presencia de acetogéninas en las fracciones menos polares de la semilla de *A. muricata*.

Palabras clave: Guanábana. Gorgojo del maíz. Efecto Insecticida. Extractos de plantas.

Abstract: The corn weevil *Sitophilus zeamais* is a very significant pest worldwide that causes severe damage to stored grains resulting in high economic losses. In the present study, the insecticidal effect of *Annona muricata* (soursop) seed extracts was evaluated. The extracts were obtained using hexane (non polar), ethyl acetate (half polar) and ethanol (polar), and these were applied to *S. zeamais* adults using ingestion and topical application. The emergence of new adults in corn seeds treated with the extracts was also evaluated. The LC₅₀ (median lethal concentration) obtained in the ingestion bioassays for the hexane extract was 4,009, 3,854 and 3,760 ppm at 24, 48 and 72 hours, respectively. For the ethyl acetate extract it was 3,280, 2,667 and 2,542 ppm at the same times. The LC₅₀ of the hexane extract in the topical application was 9,368 ppm at 72 hours. The other extracts in both bioassays showed little insecticidal activity. Emergence was 100% inhibited at concentrations of 2,500 ppm for the ethyl acetate and hexane extracts and at 5,000 for the ethanol extract. The insecticidal effect of the ethanol extracts is debatable given their low efficacy. The extracts are more effective through ingestion than by contact. The insecticidal effect is probably caused by the presence of acetogenins in the less polar fractions of the *A. muricata* seeds.

Key words: Soursop. Corn weevil. Insecticide effect. Plant extracts.

Introducción

A nivel mundial, el manejo de los granos almacenados se ha tornado en un problema de difícil control por la gran cantidad de plagas que atacan directamente la calidad física, química y biológica de los diferentes productos. Las pérdidas más relevantes se encuentran en países tropicales y subtropicales en los que las condiciones de humedad relativa y temperatura son idóneas para la propagación a gran escala de toda clase de insectos. Las plagas de los granos almacenados no sólo afectan la calidad, sino que además, son precursores de hongos y otros microorganismos indeseables a la hora de comercializar y consumir los productos (Andrews y Quezada 1989). En Colombia, las deficientes prácticas de cosecha y condiciones precarias de almacenamiento de granos han favorecido la supervivencia de gran cantidad de especies insectívoras, entre las cuales se destaca *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855. Las pérdidas que ocasiona esta especie son incalculables en algunos casos (Vergara 1994). Especialmente en el maíz

(*Zea mays* L.) en regiones tropicales (Throne 1994; Danho *et al.* 2002), con el agravante de que puede atacar incluso pastas alimenticias (Dobie *et al.* 1991).

El gorgojo del maíz *S. zeamais*, es un coleóptero perteneciente a la familia Curculionidae. Fue descrito por Motschulsky en 1855, como aclaración a la clasificación hecha por Linnaeus en 1763 del *S. oryzae*. Muchos autores relacionan *S. zeamais* y *S. oryzae* como una especie; pero en 1961 Kuschel propuso diferenciar ambas especies por medio de su genitalia. Es originario de la India, pero ha sido encontrado también en Europa y en regiones tropicales del mundo entero. Es una especie distribuida extensamente en los trópicos y subtropicos, presente en países como Brasil, México, Colombia, Venezuela, Perú y Chile (Andrews y Quezada 1989). *S. zeamais* tiene gran capacidad de vuelo, lo que le permite infestar los cereales desde el campo. Ataca todos los cereales, siendo extraordinariamente destructivo. Las hembras horadan el grano y depositan en cada diminuta perforación un huevecillo que posteriormente es cubierto con una secreción, por lo que su presencia pasa

¹ Profesor Titular. Magíster en Ciencias Agrarias. Grupo de Investigaciones Agroindustriales (GRAIN). Universidad Pontificia Bolivariana. A. A. 56006, Medellín, Colombia. carlos.hincapie@upb.edu.co.

² Ingeniero Agroindustrial. Grupo de Investigaciones Agroindustriales (GRAIN). Universidad Pontificia Bolivariana. A.A. 56006, Medellín, Colombia.

³ Ingeniero Agroindustrial. Grupo de Investigaciones Agroindustriales (GRAIN). Universidad Pontificia Bolivariana. A.A. 56006, Medellín, Colombia.

inadvertida. Cada hembra deposita de 300 a 400 huevos que tardan entre cuatro y seis semanas en transformarse en adultos. La larva, carente de patas, se alimenta, se transforma en pupa y finalmente en adulto, dentro del grano. El adulto vive de cuatro a cinco meses. La hembra alcanza su máxima actividad de oviposición después de tres semanas de haber emergido. Se considera una plaga primaria porque los adultos son capaces de perforar los granos (Arias y Dell'Orto 1983).

El uso de insecticidas de síntesis química para tratar este tipo de insectos ya no constituye un medio eficaz de control. Estos compuestos químicos suelen ser altamente tóxicos y tener un espectro bastante amplio, además, pueden generar problemas de residualidad en los alimentos en los cuales han sido utilizados (Vergara *et al.* 2000). Se han utilizado estrategias alternas de control de plagas en los granos almacenados: Uso de temperaturas extremas, radiación, almacenamiento hermético, sonido y percusión, polvos inertes, tierra de diatomeas, atmósferas modificadas, depredadores, parasitoides, polvos vegetales, hongos entomopatógenos y aceites (Silva-Aguayo 2006).

El control con extractos de plantas, utilizando diferentes métodos de obtención y aplicación, también ha sido ampliamente usado, generalmente a nivel artesanal. Las plantas que tradicionalmente se han utilizado en graneros rústicos para evitar el daño del grano por insectos son: cebolla (*Allium cepa* L.), ajo (*Allium sativum* L.), neem (*Azadirachta indica* A. Juss.), ají o chile (*Capsicum* spp.), cedro (*Cedrela* spp.), *Croton* spp., colorín (*Erythrina americana* Miller), eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.), paraíso (*Melia azedarach* L.), menta (*Mentha spicata* L.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), hierba santa (*Piper auritum* Kunth), homeoquelite (*Piper sanctum* (Miq.) Schltdl.), saúco (*Sambucus mexicana* Presl.), jaboncillo (*Sapindus* spp.) y ramatinaja (*Trichilia havanensi* Jacq.) (Rodríguez 2000). Los insecticidas botánicos han sido utilizados desde mucho antes que los insecticidas de síntesis química. La mayoría de las especies de plantas que se utilizan en la protección vegetal, exhiben un efecto insectistático más que insecticida (Silva *et al.* 2002). Los compuestos naturales tienen un efecto repelente, disuasivo de la alimentación o de la oviposición y regulador de crecimiento (Coats 1994). Además, también tienen efecto confusor o disruptor (Metcalf y Metcalf 1992). En el caso de los granos almacenados se debe buscar efectos preventivos, pues una vez que el insecto ya penetró el grano, cualquier polvo vegetal de probada eficacia protectora no tendrá efecto (Lagunes 1994).

Una de las familias vegetales más promisorias para la obtención de fitoinsecticidas es Anonaceae a la cual pertenece la guanábana *Annona muricata* L. (Saxena 1987; McLaughlin *et al.* 1997; González 2000; Salamanca *et al.* 2001; Morales *et al.* 2004). De las semillas de esta familia se han aislado químicamente un grupo de metabolitos secundarios bioactivos conocidos como acetogeninas. Estos compuestos policétidos cuentan con una prometedora actividad antitumoral, antiparasitaria e insecticida (Rupprecht *et al.* 1990). Las acetogeninas exhiben su potencial bioactivo a través de una reducción de los niveles de ATP inhibiendo el complejo I, afectando directamente el proceso de transporte de electrones en la mitocondria y causando apoptosis (Alali *et al.* 1999).

En muchas de las industrias destinadas a la producción de pulpas de fruta, las semillas se convierten en desecho sin ningún valor aparente. Tal es el caso de la guanábana (*A. muricata*) donde existe la posibilidad de dar un valor agregado a través de las utilización de sus semillas como materia prima para la

elaboración de fitoinsecticidas. El objetivo de esta investigación es determinar si diferentes extractos de semilla de guanábana obtenidos a partir de tres solventes orgánicos causan mortalidad o efecto antialimentario en poblaciones adultas de *S. zeamais*.

Materiales y Métodos

El trabajo fue realizado en el laboratorio de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Campus Laureles de la Universidad Pontificia Bolivariana. La cepa de *S. zeamais* se obtuvo por intermedio del Museo Entomológico Francisco Luís Gallego (MEFLG) de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Para obtener una cría masiva del insecto, la cepa se replicó repartiendo equitativamente la población inicial en frascos de vidrio y con alimento suficiente. Se taparon con una tela porosa para permitir el paso del aire. Como alimento se utilizaron granos de maíz amarillo tipo cáscara, totalmente sanos.

Para la obtención de los extractos se empleó un kilogramo de semillas de *A. muricata*. Se secaron a 40°C por 72 horas en estufa y posteriormente fueron sometidas a un proceso de reducción de tamaño en un molino de cuchilla (Cutting Mill SM 100 Standard, Retsch GmbH; Haan, Alemania) provisto de una malla de 4 mm. Posteriormente, se maceró dejando sin agitación el material con hexano (C₆H₁₄) durante 72 horas a una temperatura promedio de 25°C ± 2. Posteriormente, el material vegetal resultante (marco vegetal) se secó a 35 ± 2°C, para eliminar el hexano. Este marco se sometió a maceración, según proceso descrito anteriormente, con acetato de etilo (CH₃COOCH₂CH₃) por igual número de horas e iguales condiciones de temperatura que con el solvente anterior. A continuación, el marco resultante se secó a 35 ± 2°C, para eliminar el acetato de etilo. Finalmente, el marco del extracto anterior se maceró con alcohol etílico (C₂H₅OH) en iguales condiciones que con los otros solventes para completar el proceso. Este método de extracción, con la misma combinación de solventes o con otras pero con propiedades similares, ha sido usado y recomendado por varios investigadores para la obtención de acetogeninas (Jaramillo 1997; Salamanca *et al.* 2001; Morales *et al.* 2004). En las tres extracciones la relación entre el solvente y el material vegetal fue 2:1. Para evitar su deterioro, el extracto obtenido en cada uno de los tres pasos anteriores se separó de su respectivo solvente por destilación a presión reducida en rotaevaporador (Laborota 4010, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG; Schwabach, Germany). Esta separación se adelantó hasta eliminar los solventes de los extractos para evitar la incidencia de aquellos sobre los tratamientos.

Los extractos se dispersaron en agua destilada y esterilizada. Para los extractos con hexano se utilizó un tensoactivo (Polivinil pirrolidona marca PVP K30) en una proporción de 0,01 mg de tensoactivo / mg de extracto. Este polímero se usa para aumentar la solubilidad del extracto polar, pues originalmente es insoluble en agua, que es el solvente utilizado. El control se preparó en las mismas condiciones de los extractos dispersos, utilizando agua destilada y tensoactivo como testigo para los extractos obtenidos por hexano, y solo agua destilada para los extractos obtenidos con acetato de etilo y etanol. Se aplicó un diseño completamente al azar con 11 tratamientos y tres repeticiones para el método de aplicación topical y con 10 tratamientos con igual número de repeticiones para el ensayo por ingestión y para medir la cantidad de emergencia

de los adultos. Los extractos dispersos se aplicaron de manera tópica en las concentraciones de 5.000, 10.000, 25.000 y 50.000 ppm para el hexano y solo las tres últimas para el acetato de etilo y el etanol. Esto se debió a los resultados de pruebas preliminares. Para el método de ingestión se aplicó al alimento en las concentraciones de 1.000, 2.500, 5.000 ppm. Estas concentraciones se escogieron con base en pruebas preliminares a diferentes concentraciones hasta encontrar un rango que permitiera obtener datos donde se pudiera aplicar el método Probit de manera adecuada. Los tratamientos corresponden a los extractos mediante maceración con hexano, acetato de etilo y etanol en las concentraciones mencionadas. Para el bioensayo de aplicación topical se utilizó una unidad experimental de 10 adultos de *S. zeamais* recién emergidos, los cuales se colocaron en cajas de Petri. A cada individuo se le aplicó en el dorso una gota de extracto con un pincel. Este método a diferencia de otros como el de aplicación por *spray*, garantiza que cada individuo sea sometido a aproximadamente la misma cantidad de extracto. El conteo de mortalidad se efectuó a las 24, 48 y 72 horas. Para cada tratamiento se utilizó un testigo absoluto. Se consideró muerto aquel individuo que presentó sus extremidades completamente extendidas y no reaccionó al contacto con un pincel.

Para el método de ingestión se pesaron 7 g de maíz amarillo tipo cáscara, totalmente sano y se impregnaron con cada uno de los extractos. Posteriormente, se ubicaron 10 adultos (cinco machos y cinco hembras) recién emergidos en recipientes de vidrio y posteriormente se taparon con tela para asegurar el paso del aire. Los frascos se colocaron a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. El conteo de mortalidad se realizó a las 24, 48 y 72 horas. La prueba se extendió posteriormente por dos meses para observar el desarrollo de diferentes estados del insecto (larva, pupa y adulto) y determinar si los insectos son capaces de continuar con su proceso reproductivo habitual y si el extracto inhibe su capacidad de infestar los granos de maíz. En todas las pruebas se aplicó la fórmula de Abbott para corregir la mortalidad (Abbott 1925). Los datos de mortalidad se analizaron usando el módulo PROBIT del programa SAS®, donde se determinó la CL_{50} (Concentración Letal Media). La actividad insecticida de los diferentes extractos sobre *S. zeamais* se expresa en términos de porcentaje de mortalidad de adultos y Concentración Letal Media (CL_{50}). Estos resultados están corregidos para asegurar que la mortalidad es causada por el extracto y no por otras razones. La fórmula de Abbott (1925) para esta corrección es la siguiente:

$$\% \text{ Mortalidad corregida} = \left(\frac{\% \text{ mt} - \% \text{ mta}}{100 - \% \text{ mta}} \right) \times 100$$

mt = mortalidad en el tratamiento.

mta = mortalidad en testigo absoluto.

Resultados y Discusión

Método de aplicación topical. El extracto por maceración con hexano mostró mayor actividad insecticida (Tabla 1) que los demás en este tipo de ensayo, obteniendo a una concentración de 50.000 ppm mortalidades del 100% desde las 48 horas. Este tratamiento es diferente estadísticamente en todos los tiempos de observación del tratamiento que siguió en efectividad (Hexano a 25.000 ppm). Estos dos tratamientos fueron

muy superiores a los demás, los cuales causaron mortalidades muy bajas aún en las concentraciones más altas (Fig. 1). La mayor actividad insecticida se presenta durante las primeras 24 horas, disminuyendo de manera apreciable con el paso de tiempo, lo cual se puede ver en el comportamiento de las curvas de mortalidad (Fig. 1). Para los extractos obtenidos con acetato de etilo y etanol no se pudo determinar por las bajas mortalidades presentadas. Esto impidió el análisis por el método Probit de los datos. La mayor efectividad del extracto hexánico puede deberse a su naturaleza altamente lipofílica, lo que permite penetrar la cutícula de los insectos (Richards 1978).

Método de ingestión. El extracto que presentó mejor actividad insecticida al tratar los granos de maíz fue el obtenido con acetato de etilo a una concentración del 5.000 ppm con una mortalidad del 97% a las 72 horas de aplicación del tratamiento, seguido del extracto hexánico a 5.000 ppm. (Tabla 1). Entre estos dos tratamientos y los demás hay diferencias muy notorias (Fig. 2). Este extracto presentó una CL_{50} de 2.542 ppm a las 72 horas, seguido del extracto hexánico con una CL_{50} de 3.760 ppm (Tabla 2). Los resultados con estos dos extractos pueden ser considerados promisorios, debido a que se encuentran por debajo de la concentración máxima (5.000 ppm) recomendada por la Agencia de Cooperación Técnica Alemana (GTZ) para condiciones de laboratorio (Hellpap 1993).

Resultados similares fueron obtenidos por Salamanca *et al.* (2001) quienes encontraron que los extractos con acetato de etilo a partir de semillas de *A. muricata* mostraron mayor efectividad con respecto a los obtenidos con solventes de polaridades diferentes para el control de *Phyllophaga obsoleta* (Blanchard 1850). Los investigadores mencionados estudiaron diferentes extractos, entre ellos, de semillas de *A. muricata* encontrando que a los 15 días después de la aplicación, con el extracto obtenido usando acetato de etilo, se registró una mortalidad del 40%, con respecto al 20% logrado con el extracto obtenido con éter de petróleo y el 19% para el extracto metanólico. Los resultados de este trabajo son similares a los de Ohsawa *et al.* (1990), quienes obtuvieron sobre *Callosobrochus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae) buenos resultados con el extracto obtenido con éter de petróleo a partir de semillas de la anonácea *A. squamosa*.

La efectividad de las anonáceas sobre *S. zeamais* también se comprobó en un estudio con aceites esenciales de *Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae), *Eucalyptus citriodora* Hook y *Eucalyptus saligna* Smith (Myrtaceae), *Lippia rugosa* L. (Verbenaceae) y *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae). Estos aceites tuvieron importante actividad insecticida desde el primer día de aplicación, pero la actividad decreció después de dos días. Después de ocho días la eficacia se perdió en más de un 50% excepto en *A. senegalensis* (Ngamo-Tinkeu *et al.* 2004).

Los extractos a partir de semillas de *A. muricata* obtenidos en este estudio, mostraron mejores resultados que las plantas estudiadas por Arannilewa *et al.* (2006), quienes analizaron extractos obtenidos con éter de petróleo (apolar) usando *Aristolochia ringens* Vahl., *Al. sativum*, *Garcinia kola* Heckel, *Ficus exasperata* (Vahl.) concentrados a 15.000 ppm. Estos causaron mortalidades de 100, 85, 50 y 20% respectivamente al tercer día después de la aplicación. Igual sucedió con respecto a otras investigaciones. Tal es el caso de la investigación realizada por Silva-Aguayo *et al.* (2005), quienes estu-

Tabla 1. Porcentaje de Mortalidad por los métodos aplicación topical y de ingestión y porcentaje de emergencia para cada tratamiento.

| Tipo de extracto | % de mortalidad en cada momento de observación (horas) por aplicación topical | | | | % de mortalidad en cada momento de observación (horas) por ingestión | | | | % de emergencia a los 60 días | |
|-------------------------|---|-------|------|------|--|-----|-----|-----|-------------------------------|--------|
| | PPM | 24 | 48 | 72 | PPM | 24 | 48 | 72 | PPM | % |
| Hexano | 5.000 | 20de* | 27d | 27d | 1.000 | 7ed | 7ed | 7ed | 1.000 | 23,2bc |
| | 10.000 | 43c | 47c | 50c | 2.500 | 7ed | 7ed | 7ed | 2.500 | 0c |
| | 25.000 | 80b | 83b | 83b | 5.000 | 73b | 77b | 77b | 5.000 | 0c |
| | 50.000 | 93a | 100a | 100a | | | | | | |
| Acetato de Etilo | 10.000 | 0a | 0a | 0a | 1.000 | 0e | 7ed | 7ed | 1.000 | 16,7bc |
| | 25.000 | 0a | 0a | 0a | 2.500 | 17d | 30c | 37c | 2.500 | 0c |
| | 50.000 | 17ef | 20de | 20de | 5.000 | 93a | 97a | 97a | 5.000 | 0c |
| Etanol | 10.000 | 0a | 0a | 0a | 1.000 | 0e | 0e | 0e | 1.000 | 30d |
| | 25.000 | 0g | 0g | 0g | 2.500 | 0e | 0e | 0e | 2.500 | 30,3d |
| | 50.000 | 7g | 7g | 10gf | 5.000 | 0e | 0e | 0e | 5.000 | 0a |
| Testigo | 0 | 0g | 0g | 0g | 0 | 0e | 0e | 0e | 0 | 100a |

* Datos con la misma letra dentro de cada tipo de ensayo no son diferentes estadísticamente según la prueba de Duncan.

diaron polvos vegetales de diferentes partes de tres especies de plantas del género *Chenopodium*. En cuanto a mortalidad, sus mejores resultados se lograron a partir de la pulverización de diferentes partes de *Chenopodium ambrosoides* L., 1753 (37,18 %, 38,51% y 67,90% de mortalidad con concentraciones de 5.000, 10.000 y 20.000 ppm, respectivamente para hojas y tallos; 37,50 %, 45,84% y 69,45% de mortalidad con concentraciones de 5.000, 10.000 y 20.000 ppm, respectivamente para inflorescencias). Las otras plantas estudiadas por ellos y con las que no se obtuvieron buenos resultados fueron *Chenopodium album* L. y *Chenopodium quinoa* Willd. En otra investigación (Silva *et al.* 2003a) se estudiaron polvos a partir de diversas partes de las plantas *Azadirachta indica* J., *Chenopodium ambrosioides*, *P. boldus* M., *Piper auritum* Kunth, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck *Eucaliptus globules* L., *Laurus nobilis* L., *Ligustrum japonicum* T., *Occinum basilicum* L., *Ricinus communis* L., *Rosmarinnus officinalis* L. *Artemis nobilis* L. y *Ruta graveolens* L. La concentración estudiada para cada uno de los polvos aplicados fue de 10.000 ppm. Solo las cuatro primeras tuvieron resultados importantes de mortalidad (semilla 88,4%; 100%; 99,1% y 65,80%, respecti-

vamente); las demás plantas no lograron causar mortalidades superiores al 16,2%. Otra investigación (Silva *et al.* 2003b) sobre *S. zeamais*, usando también polvos de plantas obtuvo las mayores mortalidades con *P. boldus* Mol. a 10.000 y 20.000 ppm con valores de 50,5 y 82,8%, respectivamente. La CL₅₀ para este producto fue de 7400 ppm. Esta CL₅₀ es significativamente mayor a las obtenidas con los extractos obtenidos con acetato de etilo y hexano (Tabla 2). En otro estudio, Silva *et al.* (2005) después de analizar 23 especies de plantas, encontraron que los mejores resultados se obtuvieron con polvos de *Chenopodium ambrosioides* L. y *Peumus boldus* Mol. con un 65,8% y 99,3% de mortalidad, respectivamente, a 10.000 ppm.

Los resultados de este estudio superan por mucho a los resultados de Ogendo *et al.* (2005) tras la aplicación de polvo a partir de las plantas *Lantana camara* L. y *Tephrosia vogelii* Hook, que causaron 82,7-90,0% y 85,0-93,7% de mortalidad del insecto, pero en concentraciones de 75.000-100.000 ppm, respectivamente. Además, el Tiempo Letal Medio de exposición (TL₅₀) para lograr el 50% de mortalidad estuvo entre cinco y seis días. Con concentraciones de 25.000-50.000 ppm

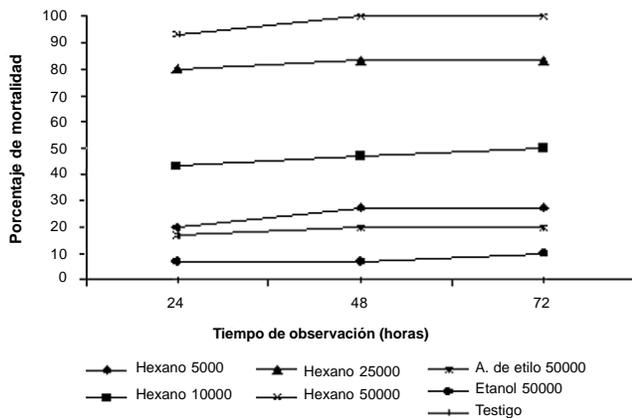


Figura 1. Porcentaje de mortalidad causado por los extractos más activos de *A. muricata* analizados sobre *S. zeamais* usando aplicación topical.

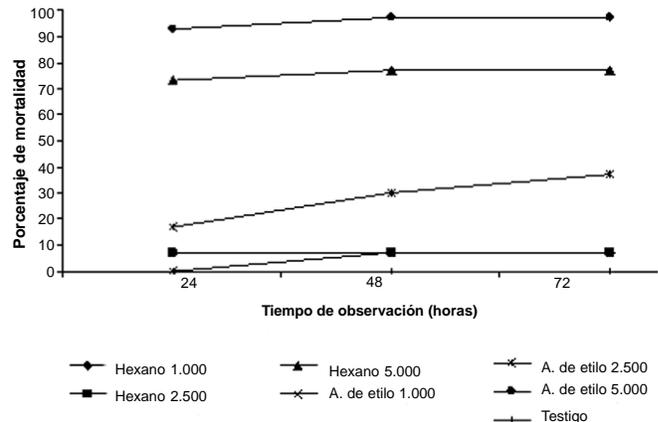


Figura 2. Porcentaje de mortalidad causado por los extractos más activos de *A. muricata* sobre *S. zeamais* usando ingestión.

Tabla 2. CL₅₀ para cada extracto por los métodos de aplicación topical e ingestión.

| Tipo de Extracto | Aplicación topical CL ₅₀ (ppm) en cada tiempo (horas) | | | Ingestión CL ₅₀ (ppm) en cada tiempo (horas) | | |
|------------------|---|-------------|-------------|--|-------------|-------------|
| | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 |
| Hexano | 11.447 | 9.635 | 9.368 | 4.009 | 3.854 | 3.760 |
| Acetato de Etilo | No obtenida | No obtenida | No obtenida | 3.280 | 2.667 | 2.542 |
| Etanol | No obtenida | No obtenida | No obtenida | No obtenida | No obtenida | No obtenida |

para ambas plantas se alcanzó un TL₅₀ de siete a ocho días. Todos estos resultados demuestran la mayor efectividad de los extractos obtenidos con los mencionados solventes sobre los obtenidos por otros investigadores.

Un aspecto relevante en este bioensayo, fue la mortalidad total de todos los insectos tratados con los extractos de hexano y acetato de etilo a los ocho días de la aplicación, mientras que los testigos continuaban todos con vida. Lo anterior da una idea de las propiedades antialimentarias de ambos extractos. Esto puede ser importante en la conservación de granos almacenados para evitar que sean atacados por esta plaga pero deben ser objeto de estudios posteriores. La CL₅₀ del extracto obtenido con etanol para este método no se determinó por no presentarse mortalidad durante el ensayo.

Prueba de emergencia. A los 60 días de la aplicación, se encontró una inhibición total de la emergencia de adultos en los tratamientos con extractos obtenidos con acetato de etilo y hexano en concentraciones de 2.500 y 5.000 ppm, así como en el extracto etanólico a 5.000 ppm. Esto puede servir como prueba preliminar del efecto sobre la reproducción del insecto estudiado (Tabla 1). En la figura 3 se puede observar el porcentaje de emergencia de insectos bajo cada uno de los extractos. Un resultado similar obtuvieron Haque *et al.* (2000), al encontrar que la concentración de 5.000 ppm de extractos de hojas de dos plantas tropicales *Operculina turpethum* (L.) Silva Manso y *Calotropis gigantea* R. Br. sobre *S. zeamais* reducen hasta en un 95% su emergencia. Los resultados del presente trabajo son más promisorios que los de Silva *et al.* (2003b), quienes después de analizar la emergencia de *S.*

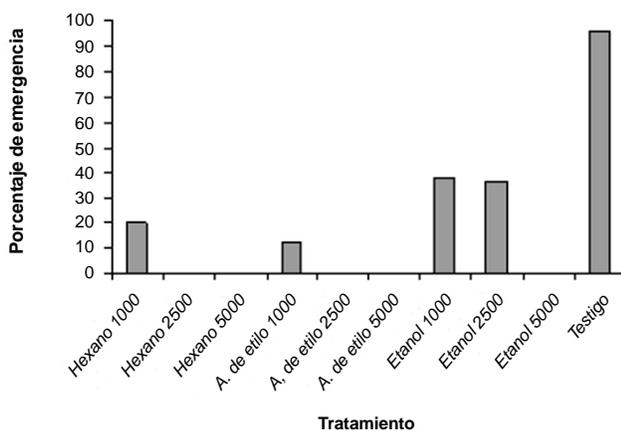


Figura 3. Porcentaje de emergencia reducida causado por los extractos de *A. muricata* sobre *S. zeamais* usando ingestión. Los tratamientos incluyen tanto el tipo de solvente como su concentración.

zeamais después de 55 días de la aplicación del pulverizado de siete plantas, obtuvieron un máximo de inhibición con *P. boldus* en concentraciones de 10.000 y 20.000 ppm con un porcentaje de emergencia de 28,8% y 5,5%, respectivamente. Otros resultados para resaltar fueron los obtenidos con *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* Mill. a 10.000 y 20.000, *Melissa officinalis* L. a 1.000, 10.000 y 20.000 ppm y *Ro. officinalis* a 10.000 ppm. En otra investigación, donde se usaron partes pulverizadas de las plantas *C. ambrosioides* y *P. boldus* a 10.000 ppm la emergencia de insectos fue de un 11,6% y 0% respectivamente. Estos fueron los mejores resultados después de analizar 23 especies de plantas (Silva *et al.* 2005). De igual forma sucede con respecto al trabajo de Silva-Aguayo *et al.* (2005), quienes analizaron polvos vegetales de diferentes partes de tres especies de plantas del género *Chenopodium*. Estos investigadores lograron los mejores resultados a partir de la pulverización de las inflorescencias de *Chenopodium ambrosioides* (15,72 %, 7,21% y 14,26% de emergencia con 5.000, 10.000 y 20.000 ppm, respectivamente). Otra investigación (Silva *et al.* 2003a) evaluó polvos a partir de diversas partes de las plantas *Ar. nobilis*, *Az. indica*, *C. ambrosioides*, *E. globules*, *La. nobilis*, *O. basilicum*, *P. boldus*, *Pi. auritum*, *Ri. communis*, *Ro. officinalis*, *Ci. sinensis*, *Li. japonicum* y *Ru. graveolens*. La concentración estudiada para cada uno de los polvos aplicados fue de 10.000 ppm. Solo las tres últimas no tuvieron resultados importantes de inhibición de la emergencia. Los autores de ese estudio atribuyen estos resultados a un efecto insectostático más que a un efecto insecticida de las plantas, pues los resultados de mortalidad no fueron tan positivos como los de emergencia. Sin embargo, hay que recalcar que estos índices fueron obtenidos a 10.000 ppm, mientras que en el presente trabajo ya había inhibición del 100% de la emergencia desde concentraciones de 2.500 ppm.

Un estudio obtuvo los siguientes resultados de emergencia, después de siete semanas de la aplicación de extractos obtenidos con éter de petróleo (apolar) y utilizando concentraciones de 5.000 ppm los siguientes: *Ar. ringens* (12,5%), *Al. sativum* (21,77%), *G. kola* (33,47%) y *F. exasperata* (68,14%) (Arannilewa *et al.* 2006). A esta misma concentración los extractos del mismo tipo a partir de semillas de *A. muricata* provocaron una inhibición total de la emergencia. Durante toda la investigación el extracto hexánico mostró un efecto insecticida importante con mortalidades superiores al 70%. Como en ambas pruebas la mortalidad fue representativa, este tipo de extracto puede ser más eficaz en un manejo integrado del *S. zeamais*.

Debido a la baja efectividad que mostró el extracto etanólico, su uso como posible fitoinsecticida para tratar al *S. zeamais* es discutido. Sin embargo, este resultado contrasta con los obtenidos por Leatemia e Isman (2004), quienes al

evaluar el efecto tóxico y antialimentario de extracto de semillas de *A. squamosa* contra dos especies de lepidópteros: *Plutella xylostella* (L.) y *Trichoplusia ni* (Hübner), encontraron que extractos acuosos y etanólicos de esta Annonaceae resultaron tóxicos para ambas especies. Usando extractos etanólicos a partir de semillas de esta misma planta Al Lawati *et al.* (2002) encontraron mortalidades del 100% a partir de la cuarta hora de exposición sobre *C. chinensis*. Así mismo, Bobadilla *et al.* (2005), registraron en larvas de *Aedes aegypti* una mortalidad del 100% a las 24 horas de aplicar el tratamiento con extractos etanólicos de semilla de *A. muricata*. De manera similar, Morales *et al.* (2004) utilizaron extractos de semillas *A. muricata* sobre larvas de *Ae. aegypti* L., 1762 y *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1820 obteniendo unas CL₅₀ para el primer insecto de 74,68 ppm (extracto con etanol), 236,23 ppm (extracto con éter de petróleo); y unas CL₅₀ para el segundo insecto de 0,82 ppm (extracto con etanol) y 16,2 ppm (extracto con éter de petróleo). Aunque las diferencias no son muy grandes, se evidenciaron mejores resultados con los extractos etanólicos.

Una posible explicación de las diferencias en los resultados en este estudio frente a los de otros investigadores puede estar en el método de extracción. Las extracciones en algunas investigaciones se realizaron directamente sobre la semilla seca, mientras que en ésta se realizó después de haber sometido la misma a hexano y posteriormente a acetato de etilo. A pesar de tener polaridades diferentes, con los dos últimos solventes pudo haberse extraído compuestos polares (afines con el etanol) gracias a fuerzas de atracción intermolecular de algunos compuestos apolares y medianamente polares (afines con hexano y acetato de etilo) con los compuestos polares. Sin embargo esto debe ser comprobado por medio de experimentos posteriores, pues también existe la posibilidad de que los compuestos contenidos en la fracción polar (extracto etanólico) no ejerzan ningún efecto sobre *S. zeamais* mientras si lo hagan sobre *P. xylostella*, *T. ni*, *C. chinensis*, *Ae. aegypti* y *An. albimanus*. De todos modos, es importante recordar que el método de extracción usado en esta investigación ha sido utilizado con éxito por muchos investigadores (Jaramillo 1997; Salamanca *et al.* 2001; Morales *et al.* 2004) y contrastar los resultados con los obtenidos mediante otros métodos es relevante pues al momento de escalar el proceso a planta industrial, es necesario buscar cuál es el que permite obtener la mejor actividad biológica, la mayor eficiencia en cuanto a obtención de compuestos activos y los menores costos desde el punto de vista del valor del solvente y el gasto energético.

Conclusiones

Los extractos de semilla de *A. muricata* obtenidos con hexano y aplicados por ingestión son sustancialmente más efectivos para el control de *S. zeamais* que polvos obtenidos a partir de algunas plantas como *P. boldus*, *M. officinalis*, *R. officinalis*, *C. ambrosoides*, *Ar. nobilis*, *Az. indica*, *E. globules*, *La. nobilis*, *O. basilicum*, *Pi. auritum*, *Ri. communis*, *Ci. sinensis*, *L. japonicum* y *Ru. graveolens*, entre otras. Los extractos, en concentraciones mucho menores, provocan un mejor control del insecto. Los polvos de plantas han sido usados de manera recurrente por algunos investigadores en los últimos años (Silva *et al.* 2002, 2003a, 2003b, 2005; Silva-Aguayo 2005; Ogendo *et al.* 2005). Los resultados de inhibición de emergencia de adultos de *S. zeamais* de los extractos obtenidos con semilla

de *A. muricata* son mejores que los obtenidos por otros investigadores con partes pulverizadas de las plantas citadas arriba y los obtenidos con éter de petróleo a partir de *Ar. ringens*, *Al. sativum*, *G. kola* y *F. exasperata*.

El extracto hexánico mostró un importante efecto insecticida en ambas pruebas la mortalidad, por lo que puede concluirse que este tipo de extracto tiene alto potencial para ser usado en un programa de manejo integrado del *S. zeamais*. Los de este estudio amplían el espectro de los insectos que pueden ser controlados con extractos a partir de anonáceas. El efecto insecticida de los extractos de estas plantas es atribuido principalmente a acetogeninas y alcaloides (Rieser *et al.* 1991; Correa 1992; Saxena *et al.* 1993; McLaughlin *et al.* 1997; Alali *et al.* 1998; Alali *et al.* 1999; González 2000; Salamanca *et al.* 2001).

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana y al CIDI por la financiación de este proyecto; al Ingeniero Agrónomo M. Sc. Rodrigo Vergara Ruiz, así como al personal del Museo Entomológico Francisco Luís Gallego de la Universidad Nacional de Medellín.

Literatura citada

- ABBOTT, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticidal. *Journal of Economical Entomology* 18: 265-267.
- AL LAWATI, H. T.; AZAM K. M.; DEADMAN, M. L. 2002. Insecticidal and repellent properties of subtropical plant extracts against Pulse Beetle, *Callosobruchus chinensis*. *Agricultural Sciences* 7 (1): 37-45.
- ALALI, F. Q.; KAAKEH, W.; BENNETT, G. W.; McLAUGHLIN, J. L. 1998. Annonaceous acetogenins as natural pesticides: potent toxicity against insecticide-susceptible and -resistant German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology* 91 (3): 641-649.
- ALALI, F. Q.; LIU, X.; MCLAUGHLIN, J. 1999. Annonaceous Acetogenins: Recent Progress. *Journal of Natural Products* 62 (3): 504-540.
- ANDREWS, K.; QUEZADA, J. 1989. Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura: Estado actual y futuro. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano, Tegucigalpa, Honduras. 623 p.
- ARANNILEWA, S. T.; EKRAKENE, T.; AKINNEYE, J. O. 2006. Laboratory evaluation of four medicinal plants as protectants against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Mots). *African Journal of Biotechnology* 5 (21): 2032-2036.
- ARIAS, C.; DELL'ORTO, H. 1983. Distribución e importancia de los insectos que dañan granos y productos almacenados en Chile. FAO/INIA, Santiago de Chile. 67 p.
- BOBADILLA, M.; ZAVALA, F.; SISNIEGAS, M.; ZAVALA, G.; MOSTACERO, J.; TARAMONA, L. 2005. Evaluación larvicida de suspensiones acuosas de *Annona muricata* Linnaeus "guanábana" sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae). *Revista Peruana de Biología* 12 (1): 145-152.
- COATS, J. R. 1994. Risks from natural versus synthetic insecticides. *Annual Review of Entomology* 39: 489-515.
- CORREA M., C. A. 1992. Acetogeninas en las semillas de *Rollinia membranacea* (annonacea). Medellín. Tesis (Químico). Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. 196 p.
- DANHO, M.; GASPAR, C.; HAUBRUGE, E. 2002. The impact of grain quality on the biology of *Sitophilus zeamais* Motschulsky

- (Coleoptera: Curculionidae): oviposition, distribution of eggs, adult emergence, body weight and sex ratio. *Journal of Stored Products Research* 38 (8): 259-266.
- DOBIE, P.; HAINES, C. P.; HODGES, R. J.; PREVETT, P. F.; REES, D. P. 1991. Insects and Arachnids of tropical stored products: Their biology and identification. A Training Manual. NRI, 2^o edition, UK. 273 p.
- GONZÁLEZ, A. 2000. Insecticidal and mutagenic evaluation of two annonaceous acetogenins. *Journal of Natural Products* 63 (6): 773-776.
- HAQUE, M. A.; NAKAKITA, H.; IKENAGA, H.; SOTA, N. 2000. Development-inhibiting activity of some tropical plants against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research* 36 (3): 281-287.
- HELLPAP, C. 1993. Steps for developing botanical pesticides. Manuscrito. G.T.Z.
- JARAMILLO, M. C. 1997. Evaluación de la actividad leishmanicida in Vitro de los extractos de la cáscara de fruto de *Annona muricata* y aislamiento y caracterización de compuestos activos de la cáscara de *A. muricata* y hojas de *Mamordica charantia*. Tesis de Maestría en Ciencias Químicas. Universidad de Antioquia, Medellín. 126 p.
- LAGUNES, A. 1994. Uso de extractos y polvos vegetales y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia. Colegio de postgraduados. USAID, CONACYT, BORUCONSA. Texcoco. México. 35 p.
- LEATEMIA, J.; ISMAN, M. B. 2004. Toxicity and antifeedant activity of crude seed extracts of *Annona squamosa* (Annonaceae) against lepidopteran pests and natural enemies. *International Journal of Tropical Insect Science* 24 (1): 150-158.
- MCLAUGHLIN, J. L.; ZENG, L.; OBERLIES, N. H.; ALFONSO, D.; JOHNSON, H. A. CUMMINGS, B. A. 1997. Annonaceous Acetogenins as New Natural Pesticides: Recent Progress, pp. 117-133. En: Hedin, P.A.; Holling gworth, R. M.; Malsler, E. P.; Miyamoto, J.; Thompson, D. G. (eds.). *Phytochemical for pest control* (ACS Symposium Series).
- METCALF, R. L.; METCALF, E. R. 1992. Plant kairomones in insect ecology and control. Chapman and Hall. New York. USA. 169 p.
- MORALES, C.; GONZALES, A.; ARAGON, R. 2004. Evaluación de la actividad larvicida de extractos polares y no polares de acetogeninas de *Annona muricata* sobre larvas de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología* 30 (2): 187-192.
- NGAMO-TINKEU, L. S.; GOUDOUM, A.; NGASSOUM, M. B.; MAPONGMETSEM, P. M.; KOUNINKI, H.; HANCE, T. 2004. Persistence of the insecticidal activity of five essential oils on the maize weevil *Sitophilus zeamais* (Motsch.) (Coleoptera: Curculionidae). *Commune Agriculture and Applied Biological Science* 69 (3): 145-147.
- OHSAWA, K.; KATO, S.; HONDA, H.; YAMAMOTO, I. 1990. Pesticidal active substances in tropical plants: insecticidal substance from seeds of Annonaceae. *Journal of Agricultural Science* 34 (4): 253-258.
- OGENDO, J. O.; BELMAIN, S. R.; DENG, A. L.; WALKER, D. J. 2005. Efficacy of *Lantana camara* L. and *Tephrosia vogelii* hook against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in stored maize grains. En: ISHS Acta Horticulturae 679: III WOCMAP Congress on Medicinal and Aromatic Plants - Volume 5: Quality, Efficacy, Safety, Processing and Trade in Medicinal and Aromatic Plants.
- RICHARDS, A. G. 1978. The chemistry of insect cuticle, pp. 205-232. En: Rockstein, M. (ed.). *Biochemistry of insects*, Academic Press, New York, U.S.A.
- RIESER, M. J.; KOZLOWSKI, J. F.; WOOD, K. V.; MCLAUGHLIN, J. L. 1991. Muricatacin: A simple biologically active acetogenin derivative from the seeds of *Annona muricata* (Annonaceae). *Tetrahedron Letters* 32 (9): 1137-1140.
- RODRÍGUEZ, C. 2000. Plantas contra plagas. RAPAM. Texcoco. México. 133 p.
- RUPPRECHT, J. K.; HUI, Y. H.; MCLAUGHLIN, J. L. 1990. Annonaceous acetogenins a review. *Journal. Natural Products* 53 (2): 237-278.
- SALAMANCA, C.; JARAMILLO, M. C.; ARANGO, G. J.; LONDOÑO, M. E.; TOBÓN, J. A.; HENAO, A. 2001. Evaluación de la actividad biológica de extractos vegetales sobre *Phyllophaga obsoleta* Blanchard (Col: Melolonthidae). *Actualidades Biológicas* 23 (75): 5-11.
- SAXENA, R. C. 1987. Antifeedants in tropical pest management. *Insect Science Applied* 8 (4-6): 731-736.
- SAXENA, R. C.; HARSHAN, V.; SAXENA, A.; SUKURAMAN, P.; SHARMA, M. C.; LAKSHAMANA, M. 1993. Larvicidal and chemosterilant activity of *Annona squamosa* alkaloids against *Anopheles stephensi*. *Journal of American Mosquito Control Association* 9 (1): 84-87.
- SILVA, G.; LAGUNES, A.; RODRÍGUEZ, J. C. RODRÍGUEZ, D. 2002. Insecticidas vegetales; una vieja y nueva alternativa en el manejo de insectos. *Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 66: 4-12.
- SILVA, G.; LAGUNES, A.; RODRÍGUEZ, J. 2003a. Control de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) con polvos vegetales solos y en mezcla con carbonato de calcio en maíz almacenado. *Ciencia e Investigación Agraria* 30 (3): 153-160.
- SILVA, G.; PIZARRO, D.; CASALS, P.; BERTI, M. 2003b. Evaluación de plantas medicinales en polvo para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky en maíz almacenado. *Revista Brasileira de Agrociência* 9 (4): 383-388.
- SILVA, G.; ORREGO, O.; HEPP, R.; TAPIA, M. 2005. Búsqueda de plantas con propiedades insecticidas para el control de *Sitophilus zeamais* en maíz almacenado. *Pesquisa Agropecuaria. Brasileira* 40 (1): 11-17.
- SILVA-AGUAYO, G. I.; KIGER-MELIVILU, R.; HEPP-GALLO, R.; TAPIA-VARGAS, M. 2005. Control of *Sitophilus zeamais* with vegetable powders of three species of *Chenopodium* genus. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 40 (10): 953-960.
- SILVA-AGUAYO, G. 2006. Control orgánico de plagas de los granos almacenados. *Revista Ciencia Ahora* 17: 35-44.
- THRONE, J. E. 1994. Life history of immature maize weevils (Coleoptera: Curculionidae) on corn stored at constant temperatures and relative humidities in the laboratory. *Environmental Entomology* 23 (6): 1459-1471.
- VERGARA, R. 1994. Artrópodos plagas de los granos, semillas y derivados almacenados (Guías Talleres Prácticos Entomología Económica No. 8). Medellín: Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. 18 p.
- VERGARA, R.; YEPES, F.; SALDARRIAGA, M. 2000. Talleres sobre manejo integrado de plagas y enfermedades. Medellín: Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional. 103 p.

Recibido: 21-sep-2006 • Aceptado: 23-mar-2008