

COMUNICACIÓN CORTA

Actividad insecticida de seis extractos etanólicos de plantas sobre mosca blanca

Rusmelicia Romero^I, Pedro Morales^{II}, Oriela Pino^{III}, Mario Cermeli^{II}, Eutimio González^I

^IUniversidad Central de Venezuela. UCV. Facultad de Agronomía. Laboratorio de Bioensayos de moscas de la fruta. Av. El Limón, Maracay. Estado Aragua. Venezuela. ^{II}INIA CENIAP Maracay. Edif. 2. Protección Vegetal. Área Universitaria. Apartado 4653. Av. El Limón, Maracay, Edo. Aragua, Venezuela. Telf. (0243) 2402772 Fax (0243) 2454320. Correo electrónico: pmorales@inia.gob.ve. ^{III}Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. Correo electrónico: oriela@censa.edu.cu.

RESUMEN: El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad insecticida de los extractos etanólicos de nim (*Azadirachta indica* L.), vinca rosea (*Catharanthus roseus* L.), ruda (*Ruta graveolens* L.), trinitaria (*Bougainvillea glabra* Choisy), cariaquito (*Lantana camara* L.) y yuquilla (*Ruellia tuberosa* L.) sobre los adultos de mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.) en condiciones de laboratorio. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con 7 tratamientos (seis extractos y un testigo) a concentraciones de 250, 500, 750 y 1000 ppm para cada extracto. Los extractos de ruda y nim causaron una mortalidad de 99,1 y 95,6% a las 72 h, respectivamente, diferentes estadísticamente a los tratamientos con vinca, trinitaria y yuquilla. El extracto de cariaquito presentó mortalidad intermedia con 78,1 %. Los extractos de nim y ruda se sugieren por su eficacia en laboratorio como candidatos para brindar a los productores otras alternativas en los programas de manejo integrado de mosca blanca.

Palabras clave: *Azadirachta indica*, *Ruta graveolens*, *Lantana camara*, *Catharanthus roseus*, *Bougainvillea glabra*, *Ruellia tuberosa*, *Bemisia tabaci*.

Insecticide activity of six ethanolic plant extracts against whitefly

ABSTRACT: The objective of this work was to determine the insecticidal activity of ethanolic extracts from neem (*Azadirachta indica* L.), vinca rosea (*Catharanthus roseus* L.), rue (*Ruta graveolens* L.), trinitaria (*Bougainvillea glabra* Choisy), cariaquito (*Lantana camara* L.), and yuquilla (*Ruellia tuberosa* L.) against adults of whitefly (*Bemisia tabaci* Gennadius) under laboratory conditions. A completely randomized design was used, with 7 treatments (6 extracts and the control) at concentrations of 250, 500, 750 and 1000 ppm for each extract. Rue and neem extracts caused a mortality of 99,1 and 95,6% at 72 hours, respectively, statistically different to treatments with yuquilla, trinitaria, and vinca. The cariaquito extract showed a mortality of 78,1%. Because of their efficacy at the laboratory, the neem and ruda extracts are recommended as candidates for offering the farmers other alternatives for the integrated pest management of whitefly.

Key words: *Azadirachta indica*, *Ruta graveolens*, *Lantana camara*, *Catharanthus roseus*, *Bougainvillea glabra*, *Ruellia tuberosa*, *Bemisia tabaci*.

Bemisia tabaci (Gennadius), Hemiptera: Aleyrodidae (mosca blanca) es una especie distribuida globalmente y se encuentra en todos los continentes, con excepción de la Antártida (1). En las regiones donde *B. tabaci* está establecida, los virus transmitidos por este insecto, especialmente aquellos que afectan tomate, frijol, pepino y cucurbitáceas, son responsables de enfer-

medades severas que tienen impacto negativo sobre el rendimiento de las cosechas (2). Como consecuencia, no es posible la producción de estos cultivos en las áreas afectadas, sin disponer de un sistema amplio e integrado de medidas para el manejo de plagas (3). Actualmente, la baja eficiencia de algunos de los insecticidas disponibles se puede asociar al desarro-

llo de resistencia y a la variabilidad genética que existe entre las poblaciones de mosca blanca presentes en diversas localizaciones geográficas e, incluso, dentro de las diferentes regiones en un país, la cual implica una mayor o menor susceptibilidad a los insecticidas, incluyendo los neonicotenoides (2).

En este contexto, se realizan grandes esfuerzos en la investigación básica y en métodos para el manejo de mosca blanca. Dentro de ellos, los extractos de plantas representan una opción promisoriosa, pues en varios países la aplicación de plaguicidas botánicos ha dado buenos resultados en el manejo de insectos que afectan diversos cultivos (4, 5). Estos productos son generalmente más seguros que los plaguicidas convencionales para los seres humanos y el medio ambiente, son sustancias biodegradables y su utilización contribuye a disminuir los problemas de presencia de residuos tóxicos en los productos de las cosechas, lo cual es particularmente importante en la producción de alimentos orgánicos (6).

Las especies vegetales producen una amplia y diversa gama de metabolitos secundarios para protegerse del ataque de herbívoros; sin embargo, la acción insecticida depende de factores genéticos, fenológicos, ambientales, fitosanitarios e incluso de la elaboración y la aplicación del producto (7). Los extractos botánicos se obtienen mediante métodos diferentes y a partir de semillas, hojas y/o raíces que se procesan frescas o secas; la materia prima vegetal procede de ecosistemas naturales o cultivos. Todos estos factores influyen en su composición química y actividad biológica (8).

Entre las familias botánicas más estudiadas se encuentran Meliaceae, Asteraceae, Fabaceae y Lamiaceae, debido a que agrupan un número elevado de especies y a que varias de ellas se identificaron como fuente de productos naturales bioactivos (9). En virtud del potencial insecticida de las plantas, el objetivo de este trabajo fue determinar, en condiciones de laboratorio, la actividad insecticida sobre adultos de mosca blanca (*B. tabaci*) de extractos etanólicos de nim (*Azadirachta indica* L.), vinca rosea (*Catharanthus roseus* L.), ruda (*Ruta graveolens* L.), trinitaria (*Bougainvillea glabra* Choisy), cariaquito (*Lantana camara* L.) y yuquilla (*Ruellia tuberosa* L.).

Los ensayos se llevaron a cabo en los invernaderos y laboratorios de Bacteriología y Entomología del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) del Instituto Nacional de Investigación Agrícola (INIA), en Maracay, Edo. Aragua, Venezuela, en el periodo de enero a mayo de 2009.

Las crías de *B. tabaci* se establecieron en invernaderos, según la metodología descrita por Baldin *et al.* (10), a temperatura de $39 \pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa de $52 \pm 5\%$. Se utilizaron, como sustratos, plantas jóvenes de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), melón (*Cucumis melo* L.) y calabacín (*Cucurbita pepo* L.) de 10 a 20 días, con renovación periódica. Las plantas se colocaron en mesones recubiertos (arriba y en los laterales) con tela de organdí, a manera de jaulas entomológicas. Dentro de las jaulas se liberaron adultos de *B. tabaci* para completar el ciclo de vida hasta la emergencia de nuevos adultos, los que se emplearon en los ensayos de laboratorio.

Para la obtención de extractos etanólicos se utilizó el material vegetal de nim, vinca rosea, trinitaria, cariaquito y yuquilla; se recolectó en los alrededores del municipio Mario Briceño Iragorry, El Limón y la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela. La ruda se adquirió en el Mercado Libre de Maracay y en la Inversora Súper Líder C. A. Av. Universidad, El Limón, Estado Aragua.

Se seleccionaron hojas sanas, libres de manchas y perforaciones por insectos y se distribuyeron en capas muy delgadas en el invernadero, donde se secaron a $44 \pm 2^\circ\text{C}$ por un periodo de 7 a 10 días. Posteriormente, se trituraron de forma manual, se pulverizaron en un homogeneizador y se conservaron en frascos de vidrio de 4 L de capacidad, limpios y etiquetados.

Al material vegetal (500 g) se le agregó etanol (99%) en cada frasco hasta cubrirlo por completo y se maceró durante 48 a 72 h en un lugar fresco y protegido de la luz. Transcurrido este tiempo, se filtró a través de 4 capas de gasas y se rotoevaporó a 50°C y 100 rpm hasta sequedad. El residuo obtenido se conservó en frascos estériles de color ámbar a una temperatura de 5°C hasta la realización de los bioensayos.

Para el ensayo se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con 7 tratamientos (seis extractos y un testigo con agua destilada). Cada extracto se evaluó a 250, 500, 750 y 1000 ppm; estas concentraciones se obtuvieron a partir de una solución madre al 10% del residuo obtenido después de la rotoevaporación. Por cada variante experimental se realizaron 4 repeticiones.

Las hojas de calabacín completas con parte del peciolo y de 11-14 días de edad se sumergieron durante 10 segundos en el tratamiento correspondiente. Cada hoja se colocó individualmente en una placa Petri, con la parte axial hacia abajo y un algodón humedecido con agua destilada en el peciolo, para sostenerlo e

hidratarlo durante el tiempo del bioensayo. Al unísono, se recolectaron del invernadero adultos de moscas blancas de 1-5 días de edad, las cuales se inmovilizaron por hipotermia a una temperatura de 4-5°C durante 3-5 minutos. Una vez seco el extracto, se transfirieron 20 adultos de moscas blancas a cada unidad experimental (placa Petri); finalmente, se mantuvieron a 25±3°C, humedad relativa de 70±5% y fotoperiodo de 12:12 fotofase: escotofase. La mortalidad se evaluó a las 24, 48 y 72 horas después de la exposición al extracto. Los insectos se consideraron muertos si estaban inmóviles al tocarlos con un pincel fino.

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante una comparación múltiple de proporciones por el método de Wald para un nivel de confianza 0,05 y se utilizó el Software estadístico CompaProWin_2.0.1 desarrollado en el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA).

Los extractos de las seis plantas estudiadas provocaron mortalidades superiores a la que se obtuvo en el testigo en los tres tiempos evaluados (Tabla 1). Los tratamientos con *R. graveolens* y *A. indica* produjeron los mayores porcentajes de mortalidad, seguidos del obtenido con *L. camara*; el resto de las plantas provocaron mortalidades iguales o inferiores al 50%. El número de adultos muertos de mosca blanca aumentó en función del tiempo para todos los extractos: los mayores porcentajes se alcanzaron a las 72 horas. Las soluciones etanólicas de ruda y nim manifestaron un elevado efecto insecticida, desde la primera evaluación, aunque los metabolitos de ruda provocaron porcentajes de mortalidad más elevados que los de nim a las 24 y 48 horas.

Con relación a la variación de la mortalidad promedio en adultos, en función de la concentración (Figura 1), los tratamientos de mejor acción insecticida fueron los extractos de nim y ruda en los cuatro

niveles de concentración utilizados. Estos extractos, aun en la concentración más baja, provocaron una mortalidad superior al 90 % y no se evidenció una dependencia de la mortalidad con la concentración en el rango estudiado.

El resto de los tratamientos mostraron una tendencia al aumento de la mortalidad en correspondencia con el incremento de la concentración de las soluciones, aunque los porcentajes no difirieron significativamente para las concentraciones de 1000, 750 y 500 ppm. Los extractos de cariaquito causaron la muerte del mayor número de los insectos evaluados a estas concentraciones, mientras que los de vinca, yuquilla y trinitaria produjeron porcentajes de mortalidad por debajo del 70% a concentraciones de 1000 y 750 ppm y menos del 50% para 500 y 250 ppm.

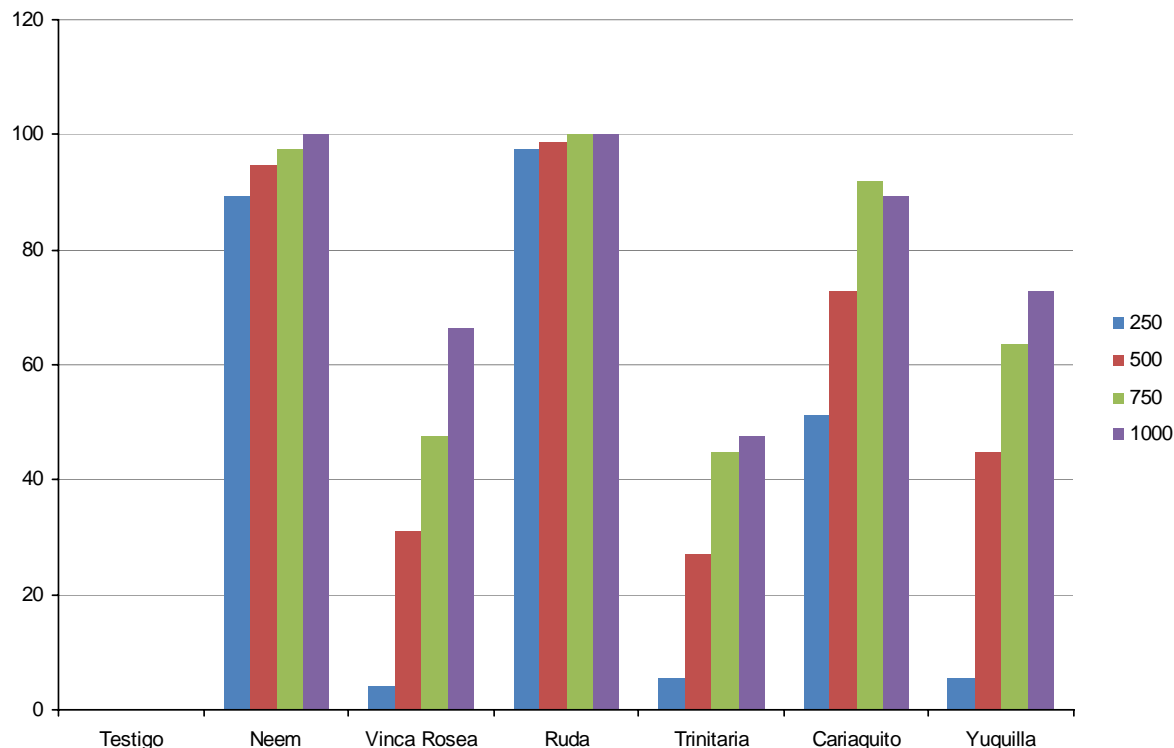
En el proceso de investigación de extractos vegetales para el desarrollo de nuevos insecticidas es importante determinar la menor concentración en que se evidencie su mayor eficacia. Los métodos de manejo, además de ser eficaces para combatir a las plagas, deben ser ambientalmente benignos y rentables económicamente (5). Una concentración efectiva menor implica la reducción de la demanda de materia prima para obtener el producto; aspecto de gran importancia, pues una de las barreras en el desarrollo de los plaguicidas botánicos ha sido el uso sostenible de la materia prima. Adicionalmente, la recomendación de una dosis más baja para proteger cultivo genera menores niveles de residuos en los productos de las cosechas y el medio ambiente.

Un extracto hidroalcohólico de ruda, recolectada en Colombia, evidenció actividad insecticida (77,18%) sobre *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) al ser aplicado por inmersión (11); sin embargo, el extracto acuoso de esta planta procedente de Brasil solo produjo 45,8% de mortalidad en adultos de *B. tabaci* biotipo B después de 72 horas de la aplicación por aspersión

TABLA 1. Efecto insecticida a diferentes tiempos de evaluación de extractos etanólicos sobre *Bemisia tabaci*. / *Insecticidal effect of ethanolic extracts against Bemisia tabaci at different evaluation times.*

Tiempo de evaluación (h)	Mortalidad (%)						
	<i>R. graveolens</i>	<i>A. indica</i>	<i>L. camara</i>	<i>R. tuberosa</i>	<i>C. roseus</i>	<i>B. glabra</i>	Testigo
24	91,9 aB	69,1 bC	50,3 cB	33,1 dB	25,3 dB	21,9 dB	2,5 eA
48	96,9 aAB	83,8 bB	69,7 bA	44 cAB	34,1 cdAB	26,6 dAB	6,2 eA
72	99,1 aA	95,7 aA	78,1 bA	50,6 cA	41,9 cA	36,3 cA	7,5 dA

Letras mayúsculas desiguales en cada columna indican diferencia significativa ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas desiguales en cada fila indican diferencia significativa ($p \leq 0,05$).



Letras minúsculas desiguales en cada bloque indican diferencia significativa ($p \leq 0,05$).

FIGURA 1. Efecto insecticida de diferentes concentraciones de extractos etanólicos de *Azadirachta indica*, *Catharanthus roseus*, *Ruta graveolens*, *Bougainvillea glabra*, *Lantana camara* y *Ruellia tuberosa* sobre *Bemisia tabaci*. / Insecticidal effect of different concentrations of ethanolic extracts from *Azadirachta indica*, *Catharanthus roseus*, *Ruta graveolens*, *Bougainvillea glabra*, *Lantana camara*, and *Ruellia tuberosa* against *Bemisia tabaci*.

(2). En el presente estudio, el extracto hidroalcohólico provocó altos niveles de toxicidad sobre los insectos de *B. tabaci*, lo que indica que el etanol es un disolvente eficiente en la extracción de los compuestos con acción insecticida sintetizados por la ruda. La actividad observada podría estar asociada a la presencia en *R. graveolens* de cetonas, fenoles y cumarinas (12).

Varios estudios previos demostraron la eficiencia de *A. indica* y otras especies de la familia Meliaceae para el control de *B. tabaci* (13). Los extractos de *A. indica* se describen como insecticidas botánicos efectivos; su actividad se relaciona con la presencia de una mezcla de limonoides, entre ellos la azadiractina, que poseen un efecto inhibitor en el crecimiento y antialimentario (14). Los resultados obtenidos con el extracto de nim corroboran las potencialidades de los metabolitos secundarios producidos por esta planta en las condiciones geobotánicas de Venezuela para su inserción en el manejo de mosca blanca.

Los resultados descritos para el extracto de *L. camara* coinciden con los señalados por otros autores en relación con el efecto insecticida de esta especie sobre mosca blanca (15, 16). El aceite esencial de esta planta demostró su efecto tóxico sobre plagas de almacén, predominan en la composición del mismo sesquiterpenos a los que pudiera asociarse el efecto observado sobre mosca blanca (17).

Aunque los extractos de trinitaria, vinca y yuquilla no causaron altos porcentajes de mortalidad sobre *B. tabaci* en el presente bioensayo, en estudios previos sí evidenciaron actividad plaguicida. Entre los constituyentes conocidos de *B. glabra* se encuentran el pinitol, betacianina, flavonoides, taninos y alcaloides, los cuales son los principales constituyentes asociados a la actividad antimicrobiana y, del mismo modo, a sus usos como insecticida (18). El extracto de hojas de vinca (*C. roseus*) contiene un α -amyrin acetato y ácido oleanólico como fuente natural de reguladores del crecimiento (IGR), efectivos sobre la oruga del ta-

backo (*Spodoptera litura* (Fabricius)), que se han considerado como principios activos en el desarrollo de nuevos insecticidas (19). Las investigaciones previas de *R. tuberosa* revelaron su actividad insecticida sobre *Tribolium castaneum* (Herbst); se plantea que esto se puede deber a la presencia de flavonoides, esteroides, triterpenoides, alcaloides y otros constituyentes (20).

Entre las causas de las bajas toxicidades sobre mosca blanca, a pesar de los antecedentes de presencia de sustancias bioactivas en estas plantas, se pueden encontrar los cambios en la composición química debido a variaciones en las metodologías, como son las técnicas y los disolventes de extracción, concentración y materia prima. También, se deben considerar las diferencias en la susceptibilidad de las poblaciones de insectos y en los métodos de bioensayo.

Los extractos de ruda, nim y cariaquito se sugieren por su eficacia en laboratorio como candidatos para brindar a los productores otras alternativas en los programas de manejo integrado de mosca blanca en Venezuela. Se recomienda desarrollar estudios posteriores para establecer la efectividad de insecticidas basados en estos extractos.

AGRADECIMIENTOS

Estas investigaciones se ejecutaron en el marco del proyecto «Producción de controladores biológicos e implementación de tácticas agroecológicas para el manejo de plagas» financiado por el Convenio Integral de Cooperación Cuba-Venezuela.

REFERENCIAS

1. Wang Y-L, Wang Y-J, Luan J-B, Yan G-H, Liu S-S, Wang X-W. Analysis of the transcriptional differences between indigenous and invasive whiteflies reveals possible mechanisms of whitefly invasion. PLoS ONE. 2013;8(5):e62176.
2. Baldin EL, Fanela TL, Pannuti LE, Kato MJ, Takeara R, Antônio, et al. Botanical extracts: alternative control for silverleaf whitefly management in tomato. Horticultura Brasileira. 2015;33:059-65.
3. (PLH) EPoPH. Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Bemisia tabaci* species complex and viruses it transmits for the EU territory. EFSA Journal. 2013;11(4):3162. 302 pp.
4. Dayan FE, Cantrell CL, Duke SO. Natural products in crop protection. Bioorganic and Medicinal Chemistry. 2009;17:4022-4034.
5. Hilje L. Avances hacia el manejo sostenible del complejo mosca blanca-geminivirus en tomate, en Costa Rica. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). 2001;61:69-80.
6. Rattan RS. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. Crop Protection. 2010;29:913-920.
7. Miresmailli S, Isman MB. Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. Trends in Plant Science. 2014;19(1):29-35.
8. Mejrib J, Abderrabbab M, Mejri M. Chemical composition of the essential oil of *Ruta chalepensis* L: Influence of drying, hydro-distillation duration and plant parts. Industrial Crops and Products. 2010;32:671-673.
9. Castillo L, González-Coloma A, González A, Díaz M, Santos E, Alonso-Paz E, et al. Screening of Uruguayan plants for deterrent activity against insects. Industrial Crops and Products. 2009;29:235-240.
10. Baldin E, Souza D, Souza E, Beneduzzi R. Controle de mosca-branca com extratos vegetais, em tomaterio cultivado em casa-de-vegetacao. Horticultura Brasileira. 2007;25:602-606.
11. Gonzales CS, Betancourth CA, Ibarra TB. Evaluación de extractos vegetales sobre mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) en frijol en condiciones de laboratorio. Revista de Ciencias Agrícolas. 2003;XX(1-II):50-61.
12. Diwan R, Shinde A, Malpathak N. Phytochemical composition and antioxidant potential of *Ruta graveolens* L. *in vitro* culture lines. Journal of Botany. 2012:1-6.
13. Bezerra-Silva GCD, Silva MA, Vendramim JD, Dias CTDS. Insecticidal and behavioral effects of secondary metabolites from Meliaceae on *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). Florida Entomologist. 2012;95(3):743-751.
14. Nicoletti M, Maccioni O, Coccioletti T, Mariani S, Fabio Vitali SBN: Neem Tree (*Azadirachta indica*

- A. Juss) as Source of Bioinsectides. 2012. In: Insecticides - Advances in Integrated Pest Management [Internet]. [411-28].
15. Gómez P, Cubillo D, Mora G, Hilje L. Evaluación de posibles repelentes de *Bemisia tabaci* Extractos vegetales. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). 1997;46:17-25.
16. Molina N. Uso de extractos botánicos en control de plagas y enfermedades. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). 2001;59:76-77.
17. Zoubiri S, Baaliouamer A. Chemical composition and insecticidal properties of *Lantana camara* L. leaf essential oils from Algeria. Journal of Essential Oil Research. 2012;24(4):377-383.
18. Edwin E, Sheeja E, Toppo E, Tiwari V, Dutt K. Efecto antimicrobiano, antiulceroso y antidiarreico de las hojas de buganvilla (*Bougainvillea glabra* Choisy). Ars Pharm. 2007;48(2):135-144.
19. Singh D, Mehta SS, Neoliya NK, Shukla YN, Mishra M. New possible insect growth regulators from *Catharanthus roseus*. Current Science. 2003;84(9-10):1148-1186.
20. Kader MA, Parvin S, Chowduri MAu, Haque ME. Antibacterial, antifungal and insecticidal activities of *Ruellia tuberosa* (L.) root extract. J bio-sci. 2012;20:91-97.

Recibido: 12-5-2015.

Aceptado: 15-12-2015.