

# Actividad insecticida de *Annona diversifolia* frente a *Atta mexicana*

Acuña Castro, Walter<sup>1</sup>  
De la Cruz Chacón, Iván  
González Esquinca, Alma Rosa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Fisiología y Química Vegetal, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Libramiento Norte Poniente s/n, col. Lajas Maciel C.P. 29032, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. alesquinca@unicach.mx

## Resumen

Varias anonáceas exhiben propiedades insecticidas, esta actividad está asociada a su capacidad de producir metabolitos secundarios, principalmente alcaloides y acetogeninas (Lebovef *et al.*, 1982; Cave *et al.*, 1997; Leatemía e Isman, 2004). Las hormigas arrieras (*Atta mexicana* Myrmeciinae) constituyen en ocasiones una de las principales plagas defoliadoras de plantaciones forestales y de cultivos agrícolas (Sánchez-Peña, 2005). El uso de insecticidas de síntesis química para tratar insectos plaga no constituye un medio eficaz de control, ya que suelen ser altamente tóxicos y tener un espectro amplio,

además, generan problemas de residualidad en los alimentos en los que se utiliza (Molina, 2001). Una alternativa es la utilización de extractos y de moléculas obtenidas de fuentes naturales que presenten actividad dirigida, moderada y que sean biodegradables, por ello en este estudio se evaluó el efecto insecticida de extractos hexánicos de *Annona diversifolia*.

Se obtuvieron extractos de las semillas, raíces, tallos y hojas mediante el método soxhlet, para la evaluación se emplearon 25 hormigas (n=5), a las que se les alimentó con soluciones de los extractos en concentraciones de 0, 1, 10, 100 y 1000 mg/ml disueltos en aceite de olivo y como cebos miel y avena. Se utilizaron testigos sin cebos y vehículo de disolución. El efecto biocida se observó a las 12, 24, 36, 48 y 60 h de exposición.

Los extractos de raíces y semilla tuvieron actividades moderadas ( $p=0.01$ ) que no superan el 50% de mortalidad ( $CL_{50}$  1.051 y 1.635 mg/ml respectivamente), el efecto se observó con las concentraciones más altas y a partir de las 36 h, con una ligera dosis-dependencia y un tiempo-dependencia muy marcado. Los extractos de tallo sólo aceleran la mortalidad con respecto a los testigos, mientras que los de hoja son inactivos. La actividad de los extractos hexánicos de *A. diversifolia* señala el potencial de esta especie sobre *Atta mexicana*.

Palabras clave: *extractos, insecticidas vegetales, actividad biológica*

## Introducción

Las plantas han evolucionado por más de 400 millones de años y para contrarrestar el ataque de los insectos desarrollaron mecanismos de protección, como la repelencia y la acción insecticida (Molina, 2001). Los vegetales poseen rutas metabólicas que forman compuestos, por lo general de bajo peso molecular, llamados metabolitos secundarios por derivarse del metabolismo primario. En las anonáceas las rutas biosintéticas de los alcaloides y de las acetogeninas están favorecidas, de manera que se caracterizan por la diversidad de estos metabolitos. También se ha reportado que producen aceites esenciales, galactoma-

nanos, flavonas, terpenos, glucósidos cianogénicos y heterocíclicos de nitrógeno no alcaloidales (González, 2005). Recientemente se ha encontrado que tanto extractos como compuestos de especies de la familia Annonaceae presentan una potente actividad insecticida, antiparasítica, acaricida, antibacteriana, antifúngica, antitumoral, antiespasmódica y citotóxica (Zafra-Polo *et al.*, 1996; Alali *et al.*, 1999). Las hormigas arrieras (*Atta mexicana*) constituyen una de las principales plagas que afectan a las plantaciones forestales, las cuales pueden reducirse hasta el 20% (López, 1999). También es considerada una plaga doméstica por su presencia en lugares donde se almacenan alimentos. Los insecticidas sintéticos han provocado la contaminación del suelo y fuentes de agua, así como la destrucción de enemigos naturales benéficos que ayudan en el control de las plagas, la intoxicación de animales domésticos, la muerte de polinizadores, la disminución de los microorganismos del suelo, favoreciendo el deterioro del ambiente (Castro, 2005). *Annona diversifolia* es un árbol abundante en Chiapas, cuyos extractos han demostrado actividad larvicida frente a la mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens* (Rueda, 2007) y *Culex pipiens quiquefaciatus* (Alamilla *et al.*, 2000), aunado a esto la presencia de moléculas bioactivas (De la Cruz, 2001). Por ello la evaluación de extractos y compuestos de *Annona diversifolia* frente a *Atta mexicana* es importante en la búsqueda de alternativas menos dañinas para el ambiente.

En este estudio se evaluó la capacidad insecticida de extractos hexánicos de *A. diversifolia* frente a *Atta mexicana*.

## Método

Para la obtención de semillas en octubre de 2008, se recolectaron en la colonia de Terán de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, frutos de *A. diversifolia*, mientras que las raíces, tallos y hojas se recolectaron en el mismo lugar en enero del 2009. Las muestras se secaron a temperatura ambiente e iluminación natural y se molieron hasta polvo fino en un molino de manivela.

Los extractos hexánicos se obtuvieron usando 50 g de semillas, 100 g de raíces, 100 g de tallos y 100 g de hojas, empleando el método de Soxhlet (Bonner y Castro, 1967). Con los extractos hexánicos de cada parte

de *A. diversifolia*, se realizaron concentraciones de 1, 10, 100 y 1000 mg/mL, utilizando aceite de olivo como diluyente y a una mezcla de avena (0.5 g) y miel (0.5 g), se le agregaron las diferentes soluciones de extractos (1.5 mL), al testigo se le colocó solamente 1.5 mL de aceite de olivo, esta mezcla se colocó en una torunda de algodón con 5 mL de agua y se incorporó en cada contenedor, todo se realizó por quintuplicado.

Se recolectaron cortadoras de *A. mexicana* de cinco hormigueros, localizados en el parque del Oriente (al lado de la puerta 6) y en la colonia San José Chapultepec (andador paso del ático) en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Se colocaron 25 hormigas en contenedores de plásticos transparentes, con tapas horadadas para dar ventilación. El efecto biocida se midió a las 12, 24, 36, 48 y 60 h de exposición.

Los datos se agruparon en una hoja de cálculo de Excell MO<sup>R</sup> y mediante el programa estadístico STATGRAPHICS plus versión de prueba, se realizaron análisis de varianza y de contrastes de diferencias mínimas significativas con el método de Fisher para realizar comparaciones entre los extractos y regresión lineal para conocer la posible dosis y tiempo dependencia, así como la concentración letal media (CI<sub>50</sub>).

## Resultados y discusión

El rendimiento de cada uno de los extractos es variable, el de semillas fue el de mayor proporción, seguido por los de raíces, hojas y tallos (cuadro 1).

Cuadro 1. Rendimientos de los extractos obtenidos

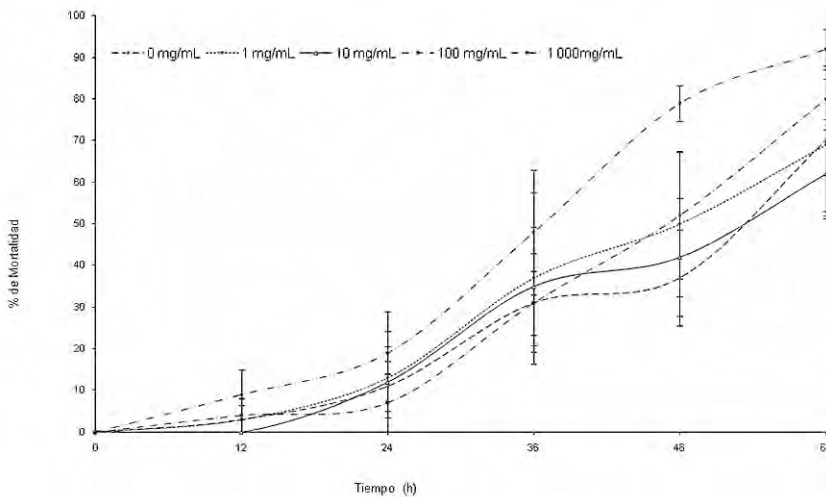
Extracto	Rendimiento (%)			
	Raíces	Tallos	Hojas	Semillas
Hexánico	6.08	4.18	4.99	20.33

Esta variabilidad se puede atribuir al metabolismo de la planta y a la especialización bioquímica de los tejidos involucrados en la biosíntesis y/o

acumulación de estos productos naturales (Piñol *et al.*, 2000), por ejemplo, el mayor rendimiento obtenido de las semillas puede deberse a que éstas son órganos de reserva, que al contener a la nueva generación vegetal, comúnmente acumulan productos fotosintéticos (Pérez *et al.*, 2004).

### Actividad del extracto de raíces

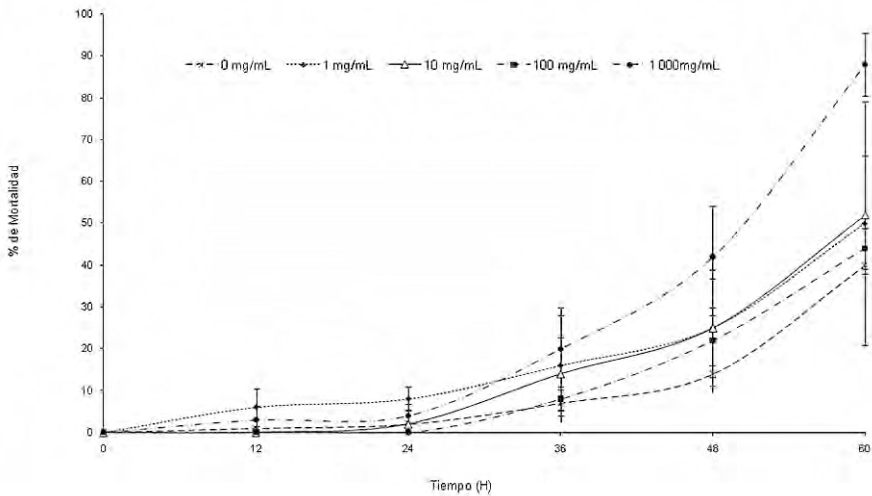
El extracto hexánico de raíces durante las primeras 36 horas tiene una actividad semejante a las de los testigos, sólo el promedio de la concentración más alta es superior a éstos. Aunque la diferencia no es estadísticamente significativa, el testigo se mantiene por debajo de los tratamientos. A las 48 horas la diferencia es marcada con respecto al control y se aprecian diferencias entre las concentraciones de 1, 100 y 1000 mg/mL. El extracto de 1000 mg/mL muestra diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.0670$ ) dejando ver también una dependencia con el tiempo de exposición, este patrón se repite en la última lectura (60 h), con lo que se puede decir que esta es la concentración más activa a partir de las 36 horas (gráfica 1).



Gráfica 1. Mortalidad de *A. mexicana* producida por el extracto hexánico de raíces

### *Actividad del extracto de semillas*

El extracto mostró actividad a partir de las 12 horas, se observa que los porcentajes de mortalidad de 1 y 1000 mg/mL son superiores respecto al testigo, sin embargo, sólo la concentración de 1 mg/mL tiene diferencia estadísticamente significativa a las 12 y 24 h. A partir de las 48 h la concentración de 1000 mg/mL muestra diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.0577$ ) con respecto al testigo y una actividad creciente con respecto al tiempo de exposición, convirtiéndose en la concentración más activa (gráfica 2). Aun sin diferencia significativa el promedio de la actividad del resto de las concentraciones evaluadas son superiores al control desde las 48 h.

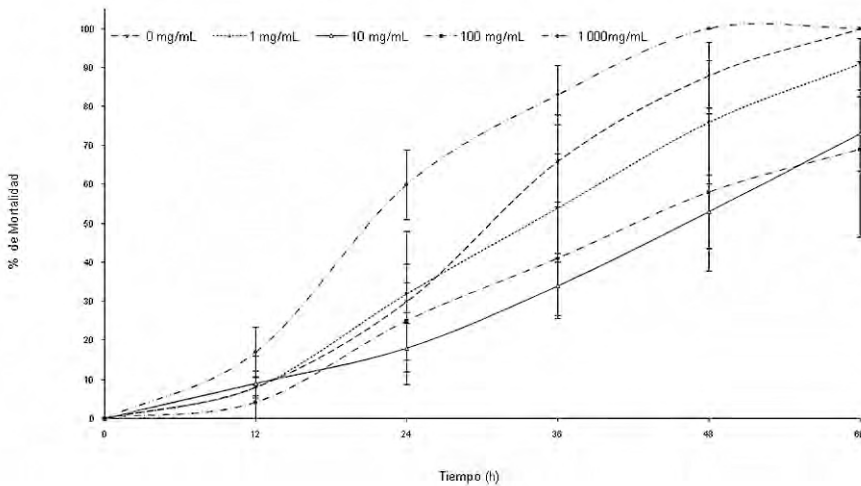


Gráfica 2. Mortalidad de *A. mexicana* producida por el extracto hexánico de semillas

### *Actividad del extracto de tallos*

La actividad insecticida del extracto se limita desde las 12 h a la concentración de 1000 mg/mL incrementándose en las horas subsecuentes, sin embargo, no hay una diferencia estadísticamente significativa, ya

que el control presenta también una alta tasa de mortalidad, incluso mayor que tres de las concentraciones evaluadas, alcanzando a las 60 h una mortalidad del 100% igual a la concentración más elevada (gráfica 3). Lo que podría deberse a una variabilidad en la recolecta de los ejemplares de las hormigas y por tanto representar una muerte natural sistemática. Aun así lo que se observa es que el extracto de 1000 mg/mL incrementa el porcentaje de mortalidad desde el tiempo inicial.

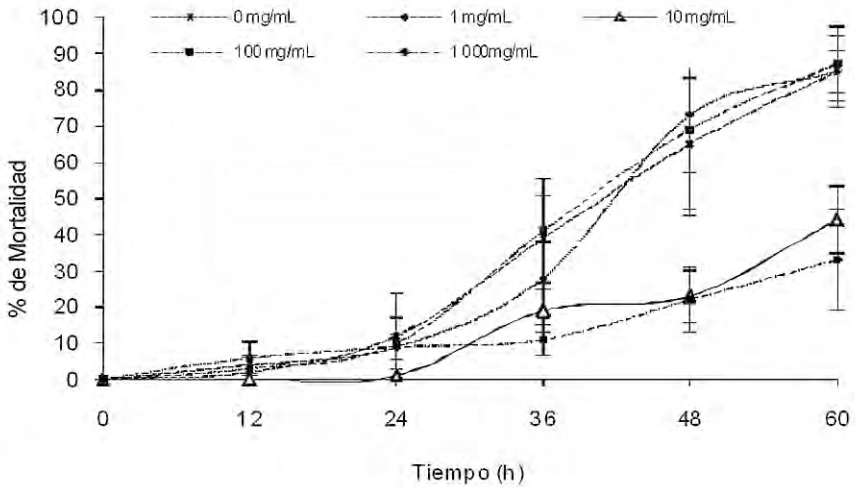


Gráfica 3. Mortalidad de *A. mexicana* producida por el extracto hexánico de tallos. Se señala con un \* las diferencias mínimas estadísticamente significativas (LSD) de Fisher e incluye valores de p con un 95.0 % de confianza

### ***Actividad del extracto de hojas***

El extracto hexánico de hojas presenta un comportamiento irregular en las concentraciones evaluadas, ya que no existe una relación generalizada en los efectos observados, la concentración de 1000 mg/mL tiene menor efecto, a diferencia de la concentración de 1 mg/mL cuyo efecto es mayor, pero entre ellas se intercalan las otras dos. Es decir, no hay una tendencia que permita explicar que el efecto es antialimentario a concentraciones altas e insecticida a concentraciones bajas. La muerte

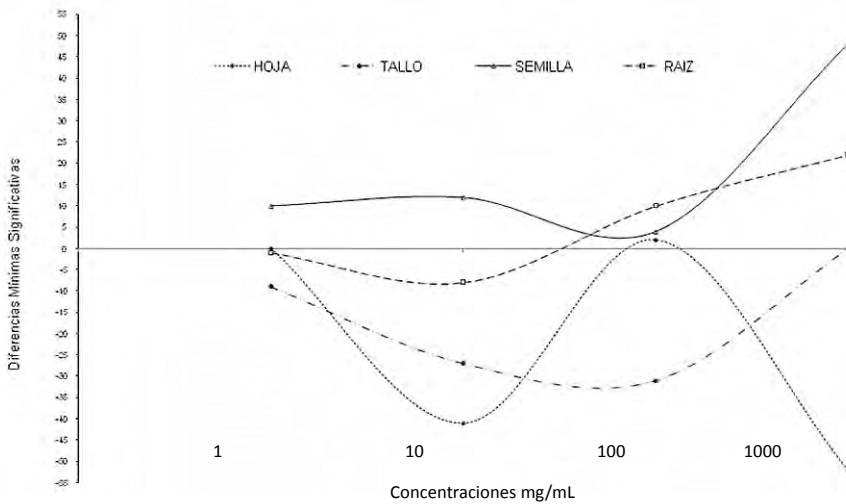
natural en los testigos deja entrever la variabilidad en los ejemplares recolectados, todo conduce a señalar que las hojas de *A. diversifolia* no tienen efecto insecticida sobre *A. mexicana* (gráfica 4).



Gráfica 4. Mortalidad de *A. mexicana* producida por el extracto hexánico de hojas

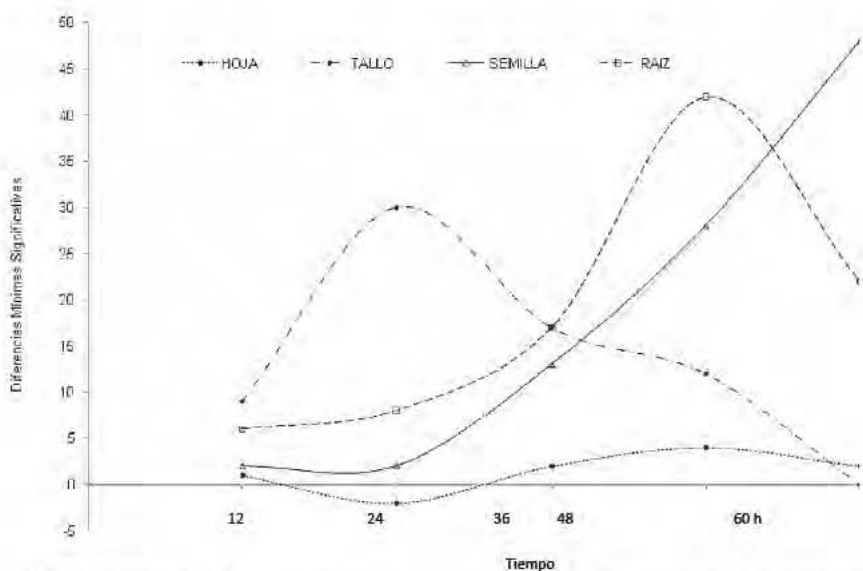
Una comparación de los 4 extractos con las 4 concentraciones evaluadas en el tiempo final de exposición (60 h) utilizando las diferencias mínimas (LSD) permite señalar que sólo los extractos de semillas y raíces a concentración de 1000 mg/mL presentan una actividad insecticida moderada pero significativa contra *A. mexicana*. El extracto de semillas resultó el más activo, en el de raíces se observa una ligera dosis dependencia (gráfica 5).





Gráfica 5. Mortalidad de *A. mexicana* producida por extractos hexánicos

Se realizó una comparación de los extractos con la concentración más activa de 1000 mg/mL y el tiempo de exposición (12, 24, 36, 48 y 60 h) utilizando las diferencias mínimas (LSD) se observa que el extracto de semilla presenta una relación entre la actividad y el tiempo de exposición durante las 48 horas evaluadas ( $y=11.8x-16.8$ ,  $R^2=0.91$ ), en raíces la dependencia es lineal hasta las 36 horas ( $y=11.7x-11$ ,  $R^2=0.84$ ), mientras que con hojas ( $y=0.8x-1$ ,  $R^2=0.33$ ;) y tallos ( $y=-3.6x+24$ ,  $R^2=0.27$ ) no existe relación (gráfica 6).



Gráfica 6. Actividad de los extractos hexánicos con relación al tiempo de exposición

De acuerdo con la  $CL_{50}$  se observa que los tallos y las hojas no presentan actividad (cuadro 2).

Cuadro 2. Concentración letal media de extractos (—, se considera sin actividad)

	$CL_{50}$
Semilla	1,051.34 mg
Raíz	1,635.68 mg
Tallo	—
Hoja	—

## Conclusión

Los extractos hexánicos de semillas y raíces de *Annona diversifolia* presentan actividad moderada frente a *Atta mexicana*, mientras que los de hojas y tallos fueron inactivos. Los extractos activos presentan una de-

pendencia con el tiempo de exposición. La actividad demostrada por los extractos hexánicos obtenidos de *A. diversifolia* reflejan el potencial frente a *Atta mexicana* de esta especie nativa de Mesoamérica.



## Referencias

- Alali, F.Q., Xiao-Xi, L. and McLaughlin, J.L. 1999. Annonaceous acetogenins: recent progres. *Journal of Natural Products*. 62: 504-540.
- Alamilla, B. 2000. Evaluación de la actividad larvicida de 4 especies del género *Annona*, mediante el bioensayo de *Culex quinquefasciatus* Say. En: Memorias del Primer Congreso Nacional de Anonáceas. Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México. México. Pp. 75-80.
- Booner, William and Castro, Albert. 1967. Essential of modern organic chemistry. Reinhold Publishing Corporation. New York, USA. Pp. 36-53.
- Castro, M. 2005. Introducción a la agricultura orgánica. Programa Nacional de Agricultura Orgánica. PLAGSALUD. Costa Rica. <http://www.cor.ops-oms.org/TextoCompleto/documentos/AGRICULTURA%20ORG.pdf>.
- Cavé, A., Figadére, B., Laurens, A. and Cortes, D. 1997. Acetogenins from Annonaceae. *Fortschr Chem Org. Naturst.* 70: 81-288.
- De la Cruz, I. 2001. Acetogeninas bioactivas de *Annona diversifolia* Safford. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. México. Pp. 20.

- González, A.R. 2005. La familia Annonaceae en Chiapas y sus metabolitos. *Ciencia y Tecnología en la Frontera*. 3 (2): 41-52.
- Leatemala J.A. and Isman, M.B. 2004. Toxicity and antifeedant activity of crude seed extracts of *Annona squamosa* (Annonaceae) against lepidopteran pest and natural enemies. *Phytoparasitica*. 32 (1): 30-37.
- Leboeuf. M., Cavé, A., Bhaumik, P.K., Mukherjee, B. and Mukherjee, R. 1982. The phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochemistry*. 21: 2783-813.
- López, Lucía. 1999. La hormiga arriera, amenaza para las plantas. *Ecología*. Gaceta Universitaria. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, México. Pp. 6.
- Molina, N. 2001. Uso de extractos botánicos en control de plagas y enfermedades. *Avances en el fomento de productos fitosanitarios*. Costa Rica. Pp. 76-77.
- Pérez, P.R., Rodríguez, H.C., Lara Reyna, J., Montes B.R. y Ramírez, V.G. 2004. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas de mosquitos *Culex quinquefasciatus* Say. *Acta Zoológica Mexicana*. 20 (1): 141-152.
- Piñol, M., Palazón, J. y Cusidó, R.M. 2000. Introducción al metabolismo secundario. En: Azcón-Bieto, J. y M. Talón. *Fundamentos de fisiología vegetal*. McGraw-Hill-Interamericana. Madrid, España. Pp. 261-283, 435-449.
- Rueda Pérez, M.L. 2007. Actividad insecticida de *Annona diversifolia* Safford sobre *Anastrepha ludens* Loew. Tesis de Licenciatura. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. México. Pp. 9, 10, 21-32.

- Sanchez-Peña, S.R. 2005. New view on origin of Attine ant-fungus mutualism: Exploitation of a preexisting insect-fungus symbiosis (Hymenoptera: Formicidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 98 (2): 151-164.
- Zafra-Polo, M.C., González, M.C., Estornell, E., Saphaz, S. and Cortes, D. 1996. Acetogenins from Annonaceae, inhibitors of mitochondrial complex I. *Review Phytochemistry*. 42 (2): 253-271.

