

PRODUCTOS NATURALES

Evaluación de la actividad insecticida de *Solanum macranthum* (Dunal) sobre ninfas de los estadios IV y V de *Rhodnius pallescens*, *Rhodnius prolixus*, *Rhodnius colombiensis*

Insecticidal activity assessment of *Solanum macranthum* (Dunal) on IV and V stages nymphs of *Rhodnius pallescens*, *Rhodnius prolixus*, *Rhodnius colombiensis*

Jorge Enrique Hernández Carvajal^I; Yolanda Florez Orjuela^{II}; Gustavo Adolfo Vallejo^{III}

^IEspecialista en Química de Productos Naturales. Profesor Catedrático. Universidad del Tolima. Facultad de Ciencias, Colombia.

^{II}Especialista en Química Ambiental. Profesor Asociado Universidad del Tolima. Facultad de Ciencias, Colombia.

^{III}Doctor en Parasitología. Profesor Investigador. Universidad del Tolima. Facultad de Ciencias, Colombia.

RESUMEN

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una enfermedad parasitaria crónica causada por el *Trypanosoma cruzi*, el cual es transmitido por diversas especies de triatominos. Dicha enfermedad genera un problema de salud pública en el departamento de Tolima-Colombia al afectar poblaciones de bajos recursos económicos, entre ellas comunidades indígenas. Teniendo en cuenta la resistencia presentada por los triatominos a los insecticidas convencionales, surge la necesidad de buscar nuevas alternativas de control de estos insectos desde el punto de vista biológico y químico. En esta investigación se evaluó la actividad insecticida en ninfas de IV y V estadio de *Rhodnius pallescens*, *Rhodnius prolixus* y *Rhodnius colombiensis*, con extractos hidroalcohólicos de hojas de *Solanum macranthum* (Dunal), a diferentes concentraciones, con exposición de 12, 24 y 36 h. *Solanum macranthum* (Dunal) presentó la máxima actividad insecticida pasadas 24 h y utilizando concentraciones inferiores a 0,3 mg/mL

Palabras clave: *Solanum macranthum* (Dunal), actividad biológica, insecticida botánico, Chagas.

ABSTRACT

Chagas' disease or American trypanosomiasis is a chronic parasitic condition caused by *Trypanosoma cruzi* which is transmissible by many *Triatoma* species. Such disease is a public health problem in Tolima department, Colombia affecting the populations with low economic incomes, mainly the indigenous ones. Taking into account the resistance of *Triatoma* to conventional insecticides, and from the biologic and chemical point of view, it is necessary to look for new control alternatives for these insects. In this research we assessed the insecticidal activity in nymphs of IV and V stage from *Rhodnius pallescens*, *Rhodnius prolixus* and *Rhodnius colombiensis* using hydro-alcoholic extracts from *Solanum macranthum* (Dunal) leaves at different concentrations exposed during 12, 24 and 36 hours. *Solanum macranthum* (Dunal) had a maximum insecticidal activity after 24 hours and using lower concentrations (0,3 mg/mL).

Key words: *Solanum macranthum* (Dunal), biological activity, botanical insecticide, Chagas's disease.

INTRODUCCIÓN

La tripanosomiasis americana o mal de Chagas representa un grave problema de salud con altos índices de mortalidad. Los estudios epidemiológicos realizados por la dirección General de Salud Pública de Colombia estiman entre 700 000 a 1 200 000 personas infectadas y 8 000 000 más en riesgo de adquirir la infección.¹

En Colombia esta zoonosis es transmitida a través de los triatominos a 150 especies de 24 familias de animales domésticos y silvestres que actúan como reservorios. Los triatominos son insectos hematófagos que viven en las rendijas, agujeros y espacios desaseados de viviendas o bodegas en las regiones de América del Sur y América Central. Estos se infectan después de picar a un animal o persona que ya padece la enfermedad. En general, la infección se propaga a los seres humanos cuando un insecto infectado deposita heces en la piel mientras que la persona está durmiendo en la noche. La persona a menudo se frota las picaduras, introduciendo accidentalmente las heces en la herida, un corte abierto, los ojos o la boca. Los animales pueden infectarse de la misma forma y también contraen la enfermedad comiendo un insecto infectado. De esta forma, el hombre entra a formar parte activa de la cadena epidemiológica de la enfermedad de Chagas.² En Colombia el género *Rhodnius* con sus especies *Rhodnius prolixus* y *Rhodnius pallenscens* son considerados los mayores vectores de la enfermedad de Chagas.³

Para el control de los vectores triatominos se han utilizado insecticidas organofosforados, organoclorados, carbamatos y piretroides, estos últimos los más

utilizados actualmente en el control de los triatominos. El empleo constante de estos compuestos químicos genera mecanismos de resistencia por parte del organismo, como lo demuestran estudios de *Vassena* y otros.⁴

Teniendo en cuenta los antecedentes de resistencia que han alcanzado los triatominos a los insecticidas convencionales aparece como alternativa para su control el empleo de insecticidas naturales. *Parra* y otros,⁵ refirieron los trabajos de *García* (2000), donde se reportó que la Azadirachtina A obtenida de los frutos de *Melia azedarach* (Meliaceae) tenía efectos tóxicos sobre *R. prolixus*; además, *Schmeda-Hurschmann & Arias* (1992) hallaron efecto repelente del aceite y del extracto etanólico de frutos de *Melia azedarach* (Meliaceae) sobre ninfas de *Triatoma infestans*. La familia Solanaceae posee una diversidad de alcaloides entre ellos los glucoalcaloides⁶ y la nicotina, potencialmente útiles como insecticidas.

En la presente investigación se evaluó la actividad insecticida de *Solanum macranthum* sobre ninfas de IV y V estadio de *Rhodnius pallescens*, *Rhodnius prolixus*, *Rhodnius colombiensis*, y de esta forma se mostró una alternativa de control biológico, accesible a los habitantes del Departamento de Tolima-Colombia ubicados en zonas endémicas.

MÉTODOS

Material vegetal. Las hojas fueron colectadas en el municipio de Ibagué-Tolima, los ejemplares fueron confrontados con los depositados en el herbario TOLI de la Universidad del Tolima identificados con el código 07928.

Preparación de extractos. Las hojas se secaron a una temperatura de 40 °C hasta peso constante, se les redujo el tamaño de partícula en un molino Willey Laboratory Mill modelo 4 Arthur Thomas Company. Con el material vegetal se preparó un macerado utilizando etanol del 96 %, renovando el solvente cada 8 horas hasta agotamiento de la muestra. Posteriormente se concentró en un rotaevaporador Büchi R-114 previa filtración del extracto. El extracto así obtenido fue sometido a un análisis fitoquímico preliminar siguiendo las marchas fitoquímicas de *Domínguez*⁷ y *Sanabria*⁸ (tabla 1). Todo este proceso se realizó en el Laboratorio de Fitoquímica de la Universidad de Tolima.

Material animal

Los triatominos *Rhodnius pallescens* (San Sebastián, Magdalena), *Rhodnius prolixus* (Boyaca), *Rhodnius colombiensis* (Coyaima, Tolima) en los estadios IV y V se obtuvieron del Laboratorio de Parasitología de la Universidad de Tolima. Los organismos se mantuvieron a una temperatura de 26-28 °C y humedad relativa del 70-75 % en el ambiente en el cual se desarrolló el ensayo. Antes del ensayo las ninfas se alimentaron cada 8 días utilizando sangre de aves de corral (*Gallus gallus*).

Bioensayos

Actividad insecticida

Para determinar la actividad insecticida se trataron por contacto ninfas de IV y V estadio de *Rhodnius pallescens*, *Rhodnius prolixus* y *Rhodnius colombiensis*. Las

ninfas en estos estadios se consideran organismos adultos, con requerimientos energéticos mayores, por lo cual aumenta la frecuencia de alimentación y por tanto una mayor probabilidad de infectados.⁹

Para conducir el experimento se realizaron dos aplicaciones simultáneas de 500 μ L del extracto hidroalcohólico de hojas de *Solanum macranthum* (Dunal) utilizando dosis de 0,2; 0,5 y 0,8 (mg/mL), con lo cual se aseguró la impregnación dorsal y ventral de las ninfas. El número de organismos empleado fue de 7 ninfas por tratamiento. Se realizaron 3 réplicas con sus respectivos controles. Se efectuaron pruebas preliminares con las ninfas, que permitieron establecer las concentraciones, dosis y tiempos de lectura para realizar el ensayo definitivo. Se registró el efecto del insecticida a las 12, 24 y 36 h. Las ninfas se consideraron como muertas una vez que perdieron la capacidad de moverse por si mismas, en comparación con el grupo control. Se adaptó a las condiciones de experimentación el protocolo sugerido por la Organización Mundial de la Salud¹⁰ para la actividad insecticida en triatominos.

Metodología estadística

Los datos fueron analizados mediante el paquete estadístico SAS System. Para estimar el efecto de las dosis y el tiempo de exposición en la respuesta del ensayo biológico, se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) como modelo estadístico. El análisis de la comparación múltiple entre las dosis y el tiempo de comparación se realizó mediante el método Tukey-pruebas simultáneas. Los valores de la dosis-respuesta fueron analizados mediante el método PROBIT, para determinar los valores de la DL₅₀ con un límite de confianza del 95 %.

RESULTADOS

En la [tabla 1](#) se muestra el reporte del análisis fitoquímico preliminar de *Solanum macranthum* (Dunal). Se observó una presencia abundante de alcaloides, lactonas terpénicas, cumarinas y flavonoides, moléculas posiblemente responsables de la actividad insecticida manifiesta en este vegetal. Este reporte se constituye en un aporte significativo en el estudio químico de dicho vegetal.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) al diseño factorial 3 x 2 x 5 x 3 formado por las especies, los estadios, las dosis y los tiempos de exposición. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre especies ($p= 0,749$) ni entre estadios ($p= 0,136$). Hubo diferencias significativas entre dosis ($p<0,001$) y tiempos de exposición ($p < 0,001$). La comparación múltiple entre las dosis mostró diferencias significativas entre las dosis de 0,2 y 0,3 mg/mL ($p= 0,0232$), entre 0,2 y 0,5 mg/mL ($p= 0,000$), entre 0,3 y 0,5 mg/mL ($p= 0,000$), pero entre 0,5 mg/mL y 0,8 mg/mL no se observaron diferencias significativas ($p= 0,998$). Igualmente hubo diferencias significativas entre 12 y 24 h de exposición ($p= 0,0002$) pero entre 24 y 36 no existieron diferencias significativas ($p= 0,993$) ([figura](#)).

La [tabla 2](#) muestra los valores de las DL₅₀ para las ninfas de *R. prolixus* *R. colombiensis* y *R. pallenscens*. De acuerdo con los intervalos de confianza calculados los cuales se interceptan en alguna de sus partes, no se estableció una diferencia significativa entre las DL₅₀. Esto muestra que los metabolitos secundarios de este vegetal son activos frente a las especies de triatominos utilizadas en esta investigación.

Las DL_{50} que se observaron para las ninfas en el estadio V con 12 h de exposición para *R. colombiensis* es de 0,310 mg/mL, *R. prolixus* 0,885 mg/mL y *R. pallenscens* de 0,278 mg/mL. La última especie con 12 h de exposición presentó en el estadio IV una DL_{50} = 0,514 mg/mL, que sugiere mayor grado de tolerancia al extracto vegetal. Este comportamiento fue particular en esta especie. La mayor toxicidad del extracto vegetal se alcanzó a las 24 h, tiempo en el cual se obtuvieron DL_{50} para instar IV y V con concentraciones de extracto inferior a 0,3 mg/mL.

DISCUSIÓN

Se observó el efecto insecticida del extracto hidroalcohólico de *Solanum macranthum* (Dunal) sobre las ninfas de IV y V instar de *R. colombiensis*, *R. pallenscens* y *R. prolixus*. Esta actividad biológica no es casual debido a que el género *Solanum* presenta alcaloides que han sido reportados en plantas de este género, como *Solanum americanum*, *Solanum ligustrinum*, que contienen solanina como glucoalcaloide, *Solanum mammosum* reporta la presencia de los alcaloides cuscohigrina, β -solamargina y solasonina⁶. Pascual¹¹ encontró efecto insecticida sobre *Tribolium castaneum* utilizando a *Nicotina rustica*, *Solanum nigrum* y *Solanum aviculare*, actividad biológica que atribuyó a los alcaloides propios del tabaco; nicotina, nornicotina, anabasina, solasodina, solasonina y solanidina presentes en especies de la familia solanaceae. Chowdhury¹² reportó actividad biológica de *Solanum villosum* frente a larvas de cuarto instar de *Culex quinquefasciatus* Say. *Solanum tuberosum* especies de este género que presenta los glicoalcaloides α -chaconina y α -solanina, se le atribuye actividad insecticida.¹³

A pesar que en la literatura no se encuentran aún reportes de la actividad insecticida de *Solanum macranthum* frente a triatominos, autores como Parra y otros⁵ trabajando con *Annona Muricata*, *Melia Azederach* y *R. Communis* encontraron actividad frente a *R. prolixus* y *R. pallenscens*. Coelho y otros¹⁴ utilizó a *G. guidonai* y *S. versicolor* que mostraron actividad insecticida frente a *R. miles*.

El instar IV de *R. pallenscens* mostró un grado de tolerancia mayor al extracto vegetal, posiblemente está relacionado con la mayor capacidad metabólica del instar V, lo cual coincidió con Reyes y otros,¹⁵ quien encontró que ninfas de V instar alimentadas, presentaron un mayor grado de absorción del insecticida.

Los antecedentes que preceden esta investigación permiten atribuir la actividad insecticida posiblemente a los alcaloides que se detectaron en el estudio fitoquímico preliminar, además no se puede descartar la posibilidad de un efecto sinérgico originado por las moléculas presentes en alta concentración en el extracto etanólico como cumarinas y flavonoides, aspecto que comparte la investigación adelantada por Pascual y otros.¹¹

Los valores de DL_{50} obtenidos en esta investigación que están por debajo de 5 000 mg/L sugieren que se trata de un extracto promisorio de acuerdo a la Agencia de Cooperación Técnica Alemana.⁵ Esto implica realizar ensayos farmacológicos que establezcan la eficacia y toxicidad del extracto con lo cual se abre una posibilidad de solucionar un problema de salud pública en Tolima-Colombia.

En conclusión, se estableció la actividad insecticida del extracto hidroalcohólico de *Solanum macranthum* (Dunal) sobre las ninfas de IV y V instar de *R. colombiensis*, *R. pallenscens* y *R. prolixus*, utilizando concentraciones en un intervalo de 0,278-0,885 mg/mL a un tiempo de 12 h. A las 24 h el intervalo de concentración fue de

0,292-0,172 mg/mL. La actividad biológica parece estar relacionada con una alta presencia de alcaloides.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Padilla C. Situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Colombia. Memorias: Taller Internacional sobre Control de la Enfermedad de Chagas. Universidad de los Andes, Bogota, Colombia. 2005. p. 19-25.
2. Guhl F, Pinto N, Aguilera G. Distribución y ecoepidemiología de los triatominos vectores de la enfermedad de Chagas en Colombia. Biomedica. 2005;25(Supl 1);76.
3. Angulo V, Sandoval C. Enfermedad de Chagas en Colombia. 2001. Memorias ECLAT IV. p. 1-6.
4. Vassena C, Picollo M. Monitoreo de resistencia a insecticidas en poblaciones de campo de *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus*. Revista de Toxicología en línea. 2003. Diciembre; 3. Disponible en: http://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=list_pages_subcategorias&scid_listado=34
5. Parra G, Garcia C, Cotes M. Actividad insecticida de extractos vegetales sobre *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae). Boletín de Malariología y Salud Ambiental. 2007; XLVII(1):125-34.
6. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo, CYTED. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. Colombia: Presencia Ltda; 1995. p. 527-533
7. Domínguez X. Métodos de investigación Fitoquímica. México, DF; Editorial Limusa; 1998. p. 84,141, 218.
8. Sanabri, A. Análisis fitoquímico preliminar. Metodología y su aplicación en la evaluación de 40 plantas de la familia Compositae. Bogota: Facultad de Ciencias. Departamento de Farmacia. Universidad Nacional; 1983. p. 42, 56, 73, 75.
9. Manual de entomología medica para investigadores de América Latina. Cali: CIDEIM; 1994. p. 242-3.
10. WHO. Protocolo de evaluación de efecto insecticida sobre triatominos. Acta Toxicol (Argentina). 1994;2:29:32.
11. Pascual M. Repelencia, inhibición del crecimiento y toxicidad de extractos vegetales en larvas de *tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae). Bol San Veg Plagas. 1998;24:143-54.
12. Chowdhury N, Bhattacharjee I, Laskar S. Efficacy of *Solanum villosum* Mill. (Solanaceae: Solanales) as a Biocontrol agent against Fourth Instar Larvae of *Culex quinquefasciatus* Say. Turk J Zool. 2007; 31:365-70.

13. Friedman M. Analysis of biologically active compounds in potatoes (*Solanum tuberosum*), tomatoes (*Lycopersicon esculentum*), and jimson weed (*Datura stramonium*) seeds. J Chromatography A. 2004; 1054: 143-55.
14. Coelho A, De Paula J, Espíndola S. Insecticidal Activity of Cerrado Plant Extracts on *Rhodnius milesi* Carcavallo, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae), under Laboratory Conditions. Neotrop Entomol. 2006; 35(1): 133-8.
15. Reyes M, Angulo V, Sandoval C. Efecto tóxico de α -cipermetrina, deltametrina y fenitrotión en cepas de *triatoma dimidiata* (Latreille, 1881) y *triatoma maculata* (Ericsson, 1848) (Hemiptera, Reduviidae). Biomédica. 2007; 27(1): 75-82.

Recibido: 18 de septiembre de 2009.
Aprobado: 21 de octubre de 2009.

Prof. *Jorge Enrique Hernández Carvajal*. Universidad del Tolima. Facultad de Ciencias. B/ Santa Helena, Colombia. Correo electrónico: tolijhernandez@hotmail.com

Tabla 1. Análisis fitoquímico preliminar del extracto etanólico de las hojas de *Solanum macranthum* (Dunal)

Metabolitos	Ensayo	Presencia	
		Positivo	Altamente positivo
Alcaloides	Dragendorff Mayer		+
Quinonas	Borntrager	+	
Taninos	Gelatina-sal	+	
Saponinas	Prueba de la espuma, hemólisis	+	
Esteroides	Lieberman Burchard Cromatografía (CCD)	+	
Cardiotónicos	Raymond Kedde	+	
Cumarinas, lactosas terpénicas	Hidroxamato férrico		+
Flavonoides	Shinoda		+

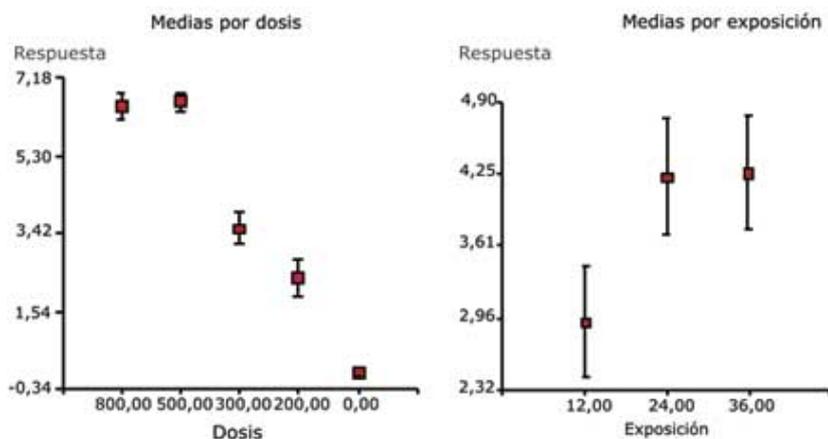


Fig. Comparación de las medias con las dosis y tiempos de exposición mediante intervalos LSD (least significative difference).

Tabla 2. DL₅₀ que expresan la mayor toxicidad obtenida en el ensayo

Especie	Estadio	Tiempo exposición	DL ₅₀ en mg/mL	Intervalo de confianza al 95%
<i>R. colombiensis</i>	V	24	268,39	173,06-397,36
<i>R. pallenscens</i>	V	24	231,61	102,63-326,94
<i>R. prolixus</i>	V	24	172,21	33,19-252,38