

EVALUACIÓN TÓXICA A NIVEL LABORATORIO DE EXTRACTO ACÉTICO Y TRES METABOLITOS DE RUDA (*Ruta graveolens*) CONTRA EL GUSANO COGOLLERO (*Spodoptera frugiperda*)

Villegas-Mendoza Jesús Manuel, Santes-Hernández Zuridai, Rivera-Sánchez Gildardo, Mireles-Martínez Maribel, Rosas-García Ninfa María y Paz-Gonzalez Alma Delia. Centro de Biotecnología Genómica Instituto Politécnico Nacional. Blvd. Del Maestro S/N esq. Elías Piña, Col. Narciso Mendoza. C.P. 88710. Cd. Reynosa Tamaulipas, México. jmvillegas@ipn.mx.

RESUMEN: Los metabolitos de *Ruta graveolens* son muy utilizados en el área farmacéutica, sin embargo, existen pocos estudios de sus efectos tóxicos en insectos del ámbito agrícola. En nuestro estudio logramos comprobar una actividad toxica contra *Spodoptera frugiperda* del extracto acético con una mortalidad del 100% y de dos metabolitos (2-undecanona y Psolaren) con 50 y 100%, respectivamente. El metabolito Rutina no presento una actividad toxica. Con base a los resultados se sugiere el uso de esta planta para el control de *S. frugiperda* en el área agrícola.

Palabras clave: *Ruta graveolens*, 2-Undecanona, Psolaren, Gusano cogollero.

Toxic evaluation of acetic extract and three metabolites of *Ruta graveolens* against Armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in laboratory

ABSTRACT: *Ruta graveolens* metabolites are widely used in pharmaceutical field, however there are few studies of their toxic effects on agriculturally important insects. In our study the toxic activity of an acetic extract against *Spodoptera frugiperda* an acetic extract with a 100% mortality and of two metabolites (2-undecanone and psoralen) causing 50 and 100%, respectively. Rutine metabolite did not show toxic activity. We suggest the use of this plant for use in agricultural pest control. **Keywords:** *Ruta graveolens*, 2-Undecanone, Psolaren, Gusano cogollero.

Key words: *Ruta graveolens*. 2-Undecanone. Psoralen. Armyworm

INTRODUCCIÓN

Ruta graveolens es una planta perteneciente a la familia de las Rutaceae, es nativa de la región del Mediterráneo y presenta diferentes usos como planta de ornamento, aromática, culinaria y medicinales. Se ha reportado que contiene más de 200 metabolitos derivados de alcaloides, cumarinas y flavonoides, entre otros (Mohamed y Ibrahim, 2012), También se han encontrado metabolitos con propiedades antitumorales, antioxidantes, antiinflamatorios (Bohidar, 2013) y antimicrobianos (Mbega *et al*, 2012). En control de plagas se ha demostrado el efecto de repelencia e insecticida a coleópteros como es el caso del gorgojo del frijol (*Acanthoscelides obtectus*) y el escarabajo de la patatas (*Leptinotarsa decemlineata*) (Rohjt *et al*, 2012), también presenta efectos contra ácaros parásitos de abejas (Castagnino y Orsi, 2012). Estudios proponen que esta planta puede ser una alternativa para el control de mosquitos transmisores de enfermedades como es el caso del control de larvas de *Culex quinquefasciatus* y *Anopheles albimanus* (Castro, 2010). Para el caso de lepidópteros se ha demostrado efecto anti-alimentario en larvas de *Hypsipyla grandella* insecto taladrador de árboles y principal plaga forestal en América latina (Barbosa *et al*, 2010), efectos repelente en adultos de *Ectropis obliqua* en plantas de té (*Camellia sinensis*) (Zheng-Qun *et al*, 2013) y en larvas de *Cydia pomonella* (Landolt *et al*, 1999) y reducción del peso en pupas en *Spodoptera frugiperda* (Santiago-Pedreira *et al*, 2008). *Spodoptera frugiperda* Smith o gusano cogollero, es una de las principales plagas de plantas de maíz y

sorgo (Avisar *et al.*, 2009) en regiones tropicales y subtropicales de América. El daño causado por esta plaga puede ocasionar una reducción en la producción, la cual puede llegar desde un 20% hasta la pérdida total del cultivo si la plaga ataca en periodos cercanos a la floración (Del Rincón-Castro *et al.*, 2006). Las larvas de *S. frugiperda* presentan 5 diferentes estadios, caracterizados por el tamaño de la cápsula cefálica (Villa-Castoreña y Catalán-Valencia, 2004). A partir del tercer estadio se introducen en el cogollo, causando el mayor daño a la planta, la fase de pupa se desarrolla en el suelo y el insecto está en reposo de 8 a 10 días para posteriormente emerger el adulto (Bautista-Martínez, 2006). El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar la actividad toxica a una dosis de 1 mg/ml de extracto acético y tres metabolitos de *R. graveolens* en larvas neonatas de *Spodoptera frugiperda* criadas en laboratorio en dieta artificial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cría de *Spodoptera frugiperda*: Los insectos se establecieron en un cuarto de cría a $27 \pm 2^\circ\text{C}$, humedad relativa de 70% y 12:12 h L: O, las larvas fueron alimentadas con dieta artificial de acuerdo a los reportado por Villegas-Mendoza *et al.*, 2013.

Extracto acético de *Ruta graveolens*: Se realizó por el método de maceración, las hojas se lavaron y secaron a temperatura ambiente por 30 min, posteriormente se pesaron 100 gr y se trituraron en una licuadora convencional por 5 minutos hasta trozos pequeños, después se depositaron en un vaso de precipitado de vidrio de 1L, al cual se le agregó 300 ml de acetato de etilo al 99.5 % y se dejó reposar durante 72 h a temperatura ambiente protegido de la luz. La disolución se recuperó con papel filtro Watman #1, el residuo se lavó tres veces con 100 ml de acetato de etilo y se dividió en 3 partes colocándose en un matraz de bola de 250 ml el cual se colocó en el rota vapor a 55°C con 180 r.p.m. para permitir la recuperación del solvente, el extracto se conservó a una temperatura de 4°C , cubierto y en oscuridad, hasta los bioensayos. **Bioensayos de mortalidad:** La actividad tóxica de los diferentes metabolitos y del extracto acético de la ruda fue evaluada mediante bioensayos de toxicidad, para ello fue utilizada una concentración de 1 mg/ml para cada tratamiento (Cuadro 1), mezclada con dieta artificial en un vaso de plástico de 1 oz. Al cual se colocaron individualmente 25 larvas neonatas de *S. frugiperda*, los tratamientos se realizaron por triplicado y la mortalidad se registró a los 7 días.

Cuadro 1. Bioensayos de toxicidad de extracto acético de *Ruta graveolens* contra *Spodoptera frugiperda*.

Tratamiento	Contenido	Dosificación
1	Extracto concentrado	1 mg/ml
2	Hidrato de Rutina $\geq 94\%$	1 mg/ml
3	2-undecanona $\geq 97\%$	1 mg/ml
4	Psoralen $\geq 99\%$	1 mg/ml
5	Dimetil Sulfoxido (DMSO)	1%
6	Control negativo	-----

Se utilizaron 125 ml de dieta por tratamiento (5 ml de dieta por vaso). Para el caso de los metabolitos Hidrato de Rutina $\geq 94\%$ y Psoralen $\geq 99\%$ se disolvieron previamente en DMSO al 1%.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

La mortalidad en larvas neonatas de *S. frugiperda* por los diferentes metabolitos y extracto acético de la ruda fue variable (Fig. 1). El metabolito Hidrato de Rutina no causó un efecto de toxicidad hacia larvas neonatas al igual que el DMSO y el blanco presentando $< 5\%$ de mortalidad. En la

actualidad no se reporta ninguna actividad insecticida de este metabolito, sin embargo, este flavonoide forma parte de los polifenoles que normalmente está distribuido en una gran variedad de plantas como antioxidante natural (Yun Jun *et al*, 2005; Zillich *et al*, 2013) Para el metabolito 2-undecanona Da-Silva *et al* (2014) reporta actividad larvicida hacia el díptero *Aedes aegypti* con una DL50 de 39.58 $\mu\text{g/ml}$ mientras que Ali *et al* (2013) reporta efecto de repelencia hacia larvas del mismo insecto. Así como un efecto nematocida hacia *Bursaphelenchus xylophilus* (Farias *et al*, 2013) y *Meloidogyne incognita* (Ntalli y Caboni, 2012).

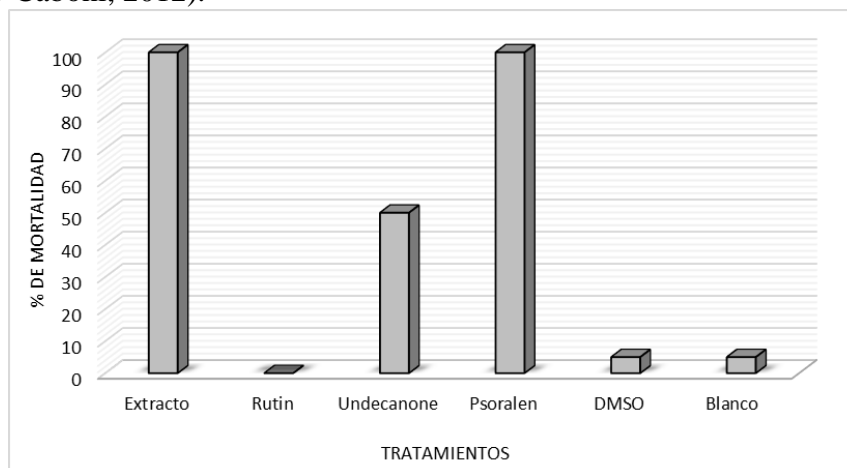


Figura 1. Porcentaje de mortalidad de extracto y tres metabolitos de *Ruta graveolens* hacia *S. frugiperda*.

Para el caso de efectos en insectos del orden Lepidoptera reporta en artículos de la década de los 80s efecto de mortalidad de la 2-undecanona en pupas en *Heliothis zea* (Farrar and Kennedy, 1988), los mismos autores un año antes también reporta efecto de deformidad en pupas en el mismo insecto y nula mortalidad contra *Manduca Sexta*, en nuestro bioensayo podemos ver una mortalidad del 50 % contra larvas neonatas con una concentración de 1 mg/ml., lo que nos daría la posibilidad de ampliar mas el espectro insecticida del 2-undecanone (Fig. 1). El metabolito Psoralen y el extracto acético muestra un 100 % de mortalidad contra gusano cogollero sin embargo para el caso de metabolito Psoralen su mayor área de investigación es farmacéutica y cosmética (Baskaran *et al*, 2011), En el área agrícola se reporta con efecto nematocida contra *Bursaphelenchus xylophilus*, *Panagrellus redivivus* and *Caenorhabditis elegans* (Liu *et al*, 2011) y con efecto de disuasión en la alimentación en dietas contaminadas en *Spodoptera exigua* (Berdegué *et al*, 1997).

CONCLUSIONES

El estudio de metabolitos de *R. graveolens* ha sido muy limitado en el área agrícola, existen pocos estudios sobre su actividad toxica en nematodos, dípteros y como fitopatógeno. Actualmente no se ha reportado actividad tóxica de su extracto y metabolitos contra *S. frugiperda*, sin embargo en nuestro estudio logramos demostrar la actividad tóxica del extracto acético y de los metrabolitos Psoralen y 2-undecanona que puede ampliar la utilización de esta planta para el uso agrícola en control de plagas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la COFFA-IPN por su financiamiento.

LITERATURA CITADA

- Ali, A., Demirci, B., Kiyan, H.T, Bernier, U.R., Tsikolia, M., Wedge, D.E., Khan, I.A., Baser, K.H.C., Tabanca, N. 2013. Biting deterrence, repellency, and larvicidal activity of *Ruta chalepensis* (Sapindales: Rutaceae) essential oil and its individual constituents against mosquitoes. *Journal of Medical Entomology*, 50: 1267-1274.
- Avisar, D., Abu-Abied, M., Belausov, E., Sadot, E., Hawes, C., and Sparkes, I.A. 2009. A comparative study of the involvement of 17 Arabidopsis myosin family members on the motility of Golgi and other organelles. *Plant Physiol.* 150, 700–709.
- Barboza, J., Hilje, L., Duron, J., Cartin, V., Calvo, M. 2010. Fagodisucción de un extracto de ruda (*Ruta chalepensis*, Rutaceae) y sus particiones sobre larvas de *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Revista de Biología Tropical*, 58: 1-14.
- Baskaran, P., Jayabalan, N., Standen, V.J. 2011. Production of psoralen by in vitro regenerated plants from callus cultures of *Psoralea corylifolia* L. *Plant Growth Regulation*, 65: 47-54.
- Berdegúe, M., White, K. K., Trumble, J. T. 1997. Feeding Deterrence of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae by Low Concentrations of Linear Furanocoumarins, *Environmental Entomology*, 26: 912-919.
- Bohidar, S., pattanaik, S., Thiruvananthapuram, M., 2013. Improved furanocoumarin production in *Ruta graveolens* L. regenerated via in vitro stem internode cultures. *Plant Biotechnology Reports*, 7: 399-405.
- Castagnino, G.L.B. and Orsi, R.O. 2012. Natural products for the control of the mite *Varroa destructor* in Africanized bees. *Pesquisa agropecuaria Brasileira*, 47: 738-744.
- Castro, E.C., Vargas, L.L., Bautista, A.R. 2010. Toxic effect *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) aqueous extracto n *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1820 and *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 larvae in experimental conditions. *Entomotropica*, 25; 11-18.
- Chua, L.S., 2013. A review on plant-based rutin extraction methods and its Pharmacological Activities. *Jornal of Ethnopharmacology*, 150: 805-817.
- Da silva, F. E., Da Mendes, F.R.S., Da Assunção, J. C.C., Santiago, G.M.P., Bezerra, A.X., M.A.X., Barbosa, F.G., Mafezoli, J., Rodriguez-Rocha, R. 2014. Seasonal variation, larvicidal and nematicidal activities of the leaf essential oil of *Ruta graveolens* L. *Journal of Essential Oil Research*, 24; 204-209.
- Del Rincón-Castro, M.C., Monnerat, R., Martins, E., Queiroz, P., Ordúz, S., Jaramillo, G., Benintende, G., Cozzi, J., Real, M.D., Martinez-Ramirez, A., Rausell, C., Cerón, J., Ibarra, J.E., Espinoza, A.M., Meza-Basso, L., Cabrera, L., Sánchez, J., Soberon, M., Bravo, A. 2006. Genetic variability of *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) populations from Latin America is associated with variations in susceptibility to *Bacillus thuringiensis* cry toxins. *Applied and environmental microbiology*, 72; 7029-7035.
- Faria, J.M.S., Barbosa, P., Bennett, R.N., Mota, M., Figueiredo A.C. 2013. Bioactivity against *Bursaphelenchus xylophilus*: Nematotoxics from essential oils, essential oils fractions and decoction waters. *Phytochemistry*, 94; 220-228.
- Farrar Jr. R.R. and Kenned G. G. 1998. 2-undecanone, a pupal mortality factor in *Heliothis zea*: sensitive larval stage and in planta activity in *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 47: 205-210

- Landolt, P.J., Hofstetter, R.W., Biddick, L.L. 1999. Plant essential oils as arrestants and repellents for neonate larvae of the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Environmental Entomology*, 28; 954-960.
- Liu, F., Yang, Z., Zheng, X., Luo, S., Zhang, K., Li G. 2011. Nematicidal coumarin from *Ficus carica* L. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 14; 79-81.
- Mbega, E.R., Mortensen, C.N., Mabagala, R.B., Wulff, E.G. 2012. The effect of plant extracts as seed treatments to control bacterial leaf spot of tomato in Tanzania. *Journal General Plant Pathology*, 78; 277-286.
- Mohamed, M.A.H. and Ibrahim, T. A. 2012. Enhanced in vitro production of *Ruta graveolens* L. Coumarins and rutin by mannitol and ventilation. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 111; 335-343.
- Ntalli, N.G. and Caboni, P. 2012. Botanical nematicides in the Mediterranean basin. *Phytochemistry Reviews*, 11; 351-359.
- Rojht, H., Kosir, I.J., Trdan, S. 2012. Chemical analysis of tree herbal extracts and observation of their activity against adults of *Acanthoscelides obtectus* and *Leptinotarsa decemlineata* using a video tracking system. *Journal Of Plant Diseases And Protection*, 119; 59-67.
- Santiago, G.P., Padua, L.E.M., Silvia, P.R.R., Carvalho, E.M.S., Maia, C.B. 2008. Effects Of Plant extracts on the biology of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) maintained under artificial diet. *Ciência e Agrotecnologia*, 32:792-796.
- Villa-castoreña, M.Ma., y Catalan-Valencia, A.E. 2004. Determinación de estadios larvales de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) para la construcción de un modelo de predicción. *Folia Entomológica Mexicana*, 43; 307-312.
- Villegas-Mendoza, J.M., Rosas-García, N.M. 2013. Visual and gustatory responses of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae to artificial food dyes. *Florida Entomologist*, 96; 1102-1106.
- Yu, J., Wang, L., Walzem, R. L., Miller, E. G. Pike, L.M. and Patil, B. S. 2005. Antioxidant activity of citrus limonoids, flavonoids, and coumarins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53; 2009-2014.
- Zheng-qun, Z., Xiao-ling, S., Zhao-jun, X., Zong-xiu L., Gao, Y., Bian, L., Zong-mao C. 2013. Identification and field evaluation of non-host volatiles disturbing host location by the tea geometrid, *Ectropis obliqua*. *Journal Chemical Ecology*, 39; 1284-1296.
- Zillich, O.V., Weisz, U.S., Hasenkopf, K., Eisner, P. and Kerscher, M. 2013. Antioxidant activity, lipophilicity and extractability of polyphenols from pig skin – development of analytical methods for skin permeation studies. *Biomedical Chromatography*, 27: 1444-1451.