

METODOLOGÍA PARA LA EVALUACIÓN DEL POTENCIAL INSECTICIDA DE ESPECIES FORESTALES

León Morales Soto¹; Carlos Mario García P.²

RESUMEN

La diversidad florística de Colombia plantea enormes retos de investigación, con miras a una utilización racional e integral de sus recursos forestales. Las plantas con efectos biocidas utilizables en el control de plagas o enfermedades revisten una singular importancia. El objetivo de este trabajo es plantear una metodología de fácil aplicación, bajo costo y rápidos resultados, que permita acopiar la información necesaria sobre el mayor número de especies con potencial en este sentido. La metodología plantea la siguiente secuencia: selección de las especies vegetales de interés, apoyada en los reportes bibliográficos, conocimiento ancestral y observaciones personales; recolección del material en el campo; preparación del extracto total a partir del material seco; pruebas iniciales con *Artemia salina* Lech. para detectar actividad biológica, a través de la determinación de la LC50 (las especies con LC50 menores de 1000 ppm se consideran promisorias y ameritan procesos posteriores de fraccionamiento químico), bioensayos con las sustancias más promisorias sobre algún organismo de interés particular y determinación final de los compuestos activos en la planta.

La metodología descrita fue empleada en la evaluación del potencial de acción biocida de 5 especies arbóreas o arbustivas, *Guarea guidonia* (L.) Sleumer y *Trichia hirta* L. (Meliaceae), *Machaerium moritzianum* Benth. (Fabaceae), *Swinglea glutinosa* Merrill. (Rutaceae) y *Mammea americana* L. (Clusiaceae). Se utilizó para los bioensayos iniciales el microcrustáceo *Artemia salina* Leach como indicador del potencial biocida con el fin de seleccionar las dos especies más promisorias a partir de las LC50 obtenidas. Con las dos se realizaron los bioensayos para evaluar la acción fagoinhibidora en la hormiga arriera *Atta cephalotes* (L.), y el posible control de *Alconeura* sp. (Homoptera: Cicadellidae), insecto chupador que afecta la ceiba verde *Pseudobombax septenatum* (Jacq.) Dugand (Bombacaceae), especie forestal importante como ornamental.

La metodología propuesta mostró resultados positivos para este tipo de evaluaciones.

Palabras clave: *Artemia salina*, bioensayos, extractos vegetales, fraccionamiento químico, biocidas.

¹ Profesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Apartado 568. Medellín

² Ingeniero Químico, M.Sc.

Aprobado para su publicación Noviembre 22 de 1999.

ABSTRACT

METODOLOGY TO EVALUATE THE INSECTICIDAL POTENTIAL OF FOREST TREE SPECIES

The flora diversity of Colombia has an enormous potential in the rational use of its forest resources. Trees with biocidal effects to control pests and diseases need to be investigated. The objective of this research was to develop a methodology with low costs, easy application and quick results. The methodology employed was as follows: selection of tree species based on bibliography, ancestral reports and personal observations. The process was as follows: field collection of plants, preparation of plants extracts, test with Artemia salina Leach to detect biological activity of the extracts using LC50. Bioassays with those extracts more promising (LC50 less than 1000 ppm). Determination of active compounds.

The methodology was employed with 5 forest tree species: Guarea guidonia (L.) Sleumer and Trichia hirta L. (Meliaceae), Machaerium moritzianum Benth. (Fabaceae), Swinglea glutinosa Merrill. (Rutaceae) and Mammea americana L. (Clusiaceae).

Using Artemia salina Leach as indicator of biocidal potential, two species were selected as the most promising, those were: Swinglea glutinosa Merrill. and Machaerium moritzianum Benth. In addition bioassays were made to evaluate fagoinhibition on Atta cephalotes (L.) (Hym.: Formicidae) and control of Alconeura. This methodology is recommended for this kind of research.

Key words: Artemia salina, bioassays, plant extracts, chemical fractions, biocidal effects.

INTRODUCCIÓN

Es mucho lo que se ha escrito sobre la riqueza florística de Colombia, sin embargo este concepto puede ser hoy seriamente cuestionado por el deterioro o destrucción incontrolada de sus ecosistemas forestales. Una de las alternativas complementarias de manejo racional de los ecosistemas boscosos sería el aprovechamiento selectivo de productos diferentes al netamente maderero, a través del conocimiento de plantas con propiedades farmacéuticas, industriales, ornamentales, etc. Dentro de éstas revisten una singular importancia las que presentan principios

biocidas utilizables en el control de plagas o enfermedades.

La evaluación del potencial insecticida de una especie forestal se debe apoyar en la revisión de literatura y en el trabajo experimental, lo cual debe conducir a la selección de las especies promisorias, para posteriormente desarrollar técnicas de recolección del material vegetal, la obtención y el fraccionamiento selectivo de los extractos, la evaluación del potencial de acción biológica (para lo cual son particularmente útiles los bioensayos con el microcrustáceo Artemia salina Leach), la evaluación de

la acción biocida sobre un insecto en especial y la evaluación química de los extractos más promisorios, para determinar compuestos de interés presentes en las plantas.

A continuación se propone una metodología basada en un trabajo experimental, que mostró ser útil para este tipo de evaluaciones.

REVISION DE LITERATURA

Durante los procesos de co-evolución de plantas e insectos, las plantas han biosintetizado un gran número de metabolitos secundarios como defensas químicas contra el ataque de los insectos. La comprensión de estos procesos co-evolutivos por químicos y biólogos ha perfilado una nueva estrategia orientada al uso y manejo de estas defensas químicas contra los insectos (Vergara y Madrigal, 1994).

La característica más importante de muchos metabolitos secundarios es su distribución relativamente restringida en la naturaleza que, en algunos casos, se limita a especies o subespecies únicas; en consecuencia son una manifestación de la individualidad del organismo que los contiene. Es posible que muchos de estos metabolitos sean esenciales para el organismo que los produce, pero en general deben tener algún significado biológico ya que son biosintetizados y biodegradados, por lo que se presume deben poseer alguna función, probablemente específica (Gros *et al.*, 1985; Valencia, 1993, Belles, 1988).

Investigaciones multidisciplinarias recientes sobre fisiología y bioquímica de insectos y sobre ecología química, en especial el estudio de las interacciones entre planta e insecto, han revelado que los metabolitos secundarios de las plantas pueden actuar como inhibidores de la alimentación de los insectos, o inducir perturbaciones sutiles en el crecimiento, desarrollo, reproducción, diapausa y comportamiento (Howe y Westley, 1988; Warren, 1989).

Las sustancias activas derivadas de las plantas, han sido utilizadas como plaguicidas desde tiempos antiguos; durante la era de los plaguicidas sintéticos fueron abandonadas y hoy su estudio constituye una aproximación en la estrategia de manejo integrado de plagas (Arnason *et al.*, 1989, citado por Atehortúa, 1994).

Aparentemente, casi cada especie vegetal ha desarrollado un complejo de sustancias químicas único, que la protege contra sus depredadores naturales; de esta manera el reino vegetal ofrece un universo de principios activos que ejercen casi cualquier actividad biológica imaginable. Además, muchos plaguicidas botánicos tienen la ventaja de proveer modos de acción novedosos, que reducen el riesgo de resistencia cruzada (Arnason *et al.*, 1989, citado por Atehortúa, 1994).

Teóricamente todas las sustancias que median en las interacciones planta-herbívoro y que confieren resistencia a las primeras, podrían tener aplicabilidad en el área relacionada con el manejo y control de las plagas. Los productos vegetales que exhiben propiedades

contra los insectos son numerosos y se ubican en diversos grupos estructurales: aminoácidos no proteicos, hormonas de insectos, taninos, triterpenos y limonoides, glicósidos cardiotónicos, glucosinolatos, glicósidos cianogénicos, fenolglucósidos, benzoxazinonas, sesquiterpenlactonas, alcaloides esteroidales y acetogeninas (Correa, 1994).

Las sustancias de origen natural, ayudan a regular las plagas y enfermedades agrícolas y cuentan con una serie de características que las distinguen de los biocidas sintéticos. A su vez, tienen ciertas ventajas y desventajas en comparación a los productos químicos (Hoss, 1992). Entre los beneficios del uso de plantas insecticidas y/o repelentes se pueden mencionar las siguientes:

1. Biodegradabilidad: estas sustancias pueden ser metabolizadas con enzimas presentes en los organismos edáficos, por lo tanto los principios activos no se acumulan en la cadena trófica.

2. Disponibilidad inmediata y bajos costos de adquisición: porque se pueden aprovechar los recursos disponibles del ambiente, con tratamientos caseros y se pueden preparar los extractos y aplicarlos en forma inmediata en caso necesario (Hoss, 1992).

Por otro lado se mencionan algunas limitaciones inherentes al uso de extractos vegetales, las cuales deben tomarse en cuenta para su aprovechamiento:

1. Inestabilidad en el medio ambiente: siendo sustancias altamente biodegradables, los principios activos se metabolizan rápidamente bajo la radiación solar, la humedad microclimática y el ataque microbiano, reduciéndose su acción en el tiempo y haciendo necesario aplicaciones frecuentes.

2. Los extractos no actúan de manera sistémica: su radio de acción se limita a las partes vegetales directamente expuestas a las sustancias activas, controlando sobre todo plagas de masticadores de hojas y chupadores de savia.

3. Posible alta toxicidad aguda para mamíferos: en el caso de toxinas vegetales, pueden causar daños a la salud humana por su modo de acción indiscriminada hacia los seres vivos (Hoss, 1992).

Para la evaluación inicial del efecto biocida de extractos vegetales se acostumbra utilizar organismos vivos de fácil manejo y respuesta rápida; de estos el *Artemia salina* Leach es uno de los más empleados, por ser un bioensayo rápido, barato y de fácil manipulación. Los huevos de *A. salina* se consiguen en tiendas de peces y permanecen viables por años en estado seco, ya que forman una especie de quiste que les permite sobrevivir en esa forma hasta que las condiciones medio ambientales les sean favorables. Para su eclosión se colocan en una solución salina entre 48 y 72 horas, al cabo de las cuales debe haber una alta cantidad de larvas llamadas comúnmente nauplios o nauplii. *A. salina* se ha utilizado principalmente en

bioensayos para evaluar residuos de pesticidas, micotoxinas, corrientes contaminadas, anestésicos, toxinas dinoflageladas, compuestos similares a morfina, toxicidad de aceites dispersantes, cocarcinógenos y tóxicos en ambientes marinos. En la mayoría de los ensayos utilizan los nauplios; sin embargo, la inhibición en la eclosión de los huevos también es utilizada como indicador de algún fenómeno anormal en el medio (Meyer *et al.*, 1982). Se ha demostrado que compuestos que presentan actividad tóxica frente a *A. salina* correlacionan muy bien con actividades detectadas por otros métodos (Alkohafi *et al.*, 1989, citados por Moreno *et al.*, 1995).

PREPARACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES

Materiales y equipos. En los procedimientos para la recolección de muestras vegetales se emplean los siguientes materiales y equipos: tijeras cortarramas con tubos de aluminio, tijeras podadoras manuales, altímetro, sacos de tela, bolsas de papel, brochas, paños, bolsas plásticas, rótulos adhesivos, estufa con temperatura controlada y balanza de precisión.

Para la obtención de los extractos vegetales se utilizan los siguientes materiales y equipos: licuadora, papel filtro, papel aluminio, cristalería, evaporador rotatorio (Rotoevaporador), secador, estufa, nevera, balanza analítica, placas para cromatografía,

reveladores para cromatografía, frascos oscuros, rótulos adhesivos.

Solventes: éter de petróleo 40-60, acetato de etilo, etanol, agua destilada. Todos los solventes deben ser redestilados y purificados adecuadamente.

METODOLOGÍA

Recolección y preparación del material vegetal. La recolección del material vegetal se debe realizar en un día seco y soleado. SE selecciona el material en mejores condiciones físicas y sanitarias. Para la recolección se utilizan tijeras cortarramas con tubos de aluminio, se colectan cerca de 5 kilos de hojas por especie, de diferentes partes del árbol. Se transportan en bolsas de tela individuales para evitar recalentamiento.

Una vez en el laboratorio las muestras se extienden, a temperatura ambiente durante 12 horas. Para evitar posibles efectos sobre el extracto, se limpian con una brocha pequeña y un paño para eliminarles el polvo, musgos, líquenes etc.

El material de cada especie se empaca, pesa y rotula antes de llevarlo a la estufa a 50°C y el secado se deja avanza hasta que alcance peso constante. El segundo pesaje se realiza a las 48 horas y el tercero y cuatro a las 24 horas siguientes uno de otro.

Las hojas, una vez secas se dejan enfriar, se pulverizan manualmente y empacan en bolsas plásticas, debidamente pesadas y rotuladas.

Preparación de los extractos vegetales totales. De cada especie, se toman 1000 gramos de material, se licuan con etanol y se almacenan en frascos sellados. Se emplean aproximadamente 3 litros de etanol por muestra.

Pasados 7 días, después de agitar la mezcla, se filtra y se destila a presión reducida (rotoevaporador) y temperatura controlada entre 40 y 50°C, para retirar el etanol del extracto vegetal. La temperatura nunca debe sobrepasar los 50°C, con lo que se evita la degradación de los compuestos presentes en las plantas.

Con el solvente recuperado se cubre la muestra nuevamente y al otro día después de agitarla, se filtra y se destila una vez más, procedimiento que se repite cerca de un mes hasta que se retiran, de la muestra vegetal, los compuestos solubles, lo cual se aprecia visualmente por el color claro del residuo.

Una vez retirado el solvente, a los extractos obtenidos se les determina la concentración en % peso/peso, se empacan en botellas oscuras y se almacenan en nevera a 4°C para su posterior utilización en los bioensayos.

Cálculo de la concentración de los extractos en % peso/peso. Se preparan cápsulas pequeñas, con papel aluminio y se pesan en una balanza analítica ($\pm 0,0001$ g). A cada cápsula se le adicionan cerca de 0,5 g del extracto (solución), previamente calentado al baño María y homogenizado. Se pesa nuevamente. La cápsula con el extracto

se coloca en una estufa a 90°C durante 10 minutos. Se saca de la estufa y se pesa inmediatamente (soluto). Para cada especie se realiza por duplicado y luego se obtienen las ppm promedio. Para este cálculo se procede así:

$$\text{ppm} = \text{mg soluto/kg solución}$$

donde:

$$\text{Peso cápsula de aluminio} = P_c$$

$$\text{Peso cápsula + solución} = P_1$$

$$\text{Peso cápsula + soluto} = P_2$$

$$\text{Peso de la solución} = P_1 - P_c \quad \text{Se lleva a kg de solución}$$

$$\text{Peso del soluto} = P_2 - P_c \quad \text{Se lleva a mg de soluto}$$

$$\text{Partes por millón} = \text{ppm}$$

Fraccionamiento químico con éter de petróleo y acetato de etilo.

Fracción con éter de petróleo (lípidos). Se toma la mitad en peso del extracto total o extracto etanólico, se coloca en un embudo de separación, donde se le adiciona 3 veces su peso de agua destilada y 300 ml de éter de petróleo 40-60, se agita vigorosamente y se deja reposar. Una vez se visualizan las diferentes fracciones en el embudo, se procede a hacer la separación. La fracción que permanece disuelta en agua-etanol se lleva nuevamente al embudo y se le adiciona éter de petróleo. el proceso se repite 2 veces más con 100 ml de éter de petróleo cada vez. En este paso se obtiene una fracción soluble en agua-etanol y otra en éter de petróleo, esta última es la fracción no polar, lipídica o de desengrase, de la cual se pueden obtener lípidos, grasas y otros. Esta fracción se

concentra a presión reducida y temperatura controlada (50°C), luego se cuantifica al pesarla en una balanza de precisión.

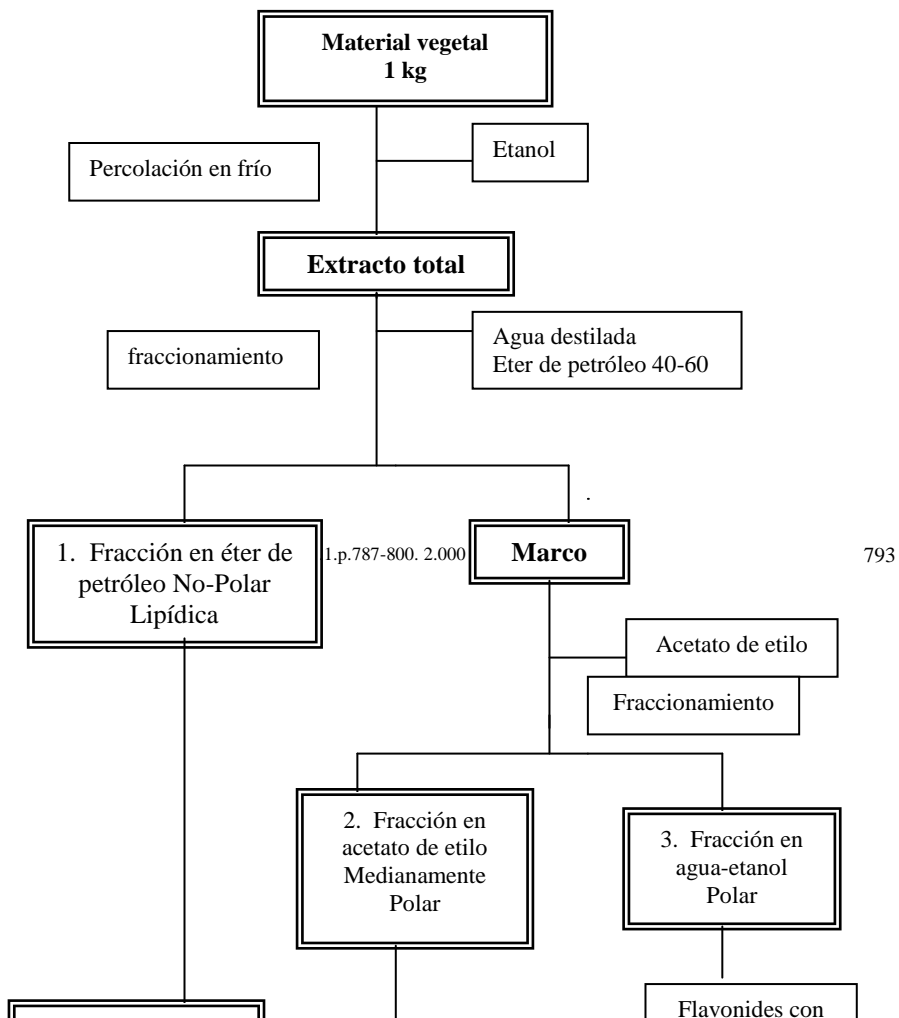
Fracción con Acetato de Etilo. La fracción agua-etanol (marco) se lleva nuevamente al embudo de separación donde se le adicionan 300 ml de acetato de etilo, se agita vigorosamente y se deja reposar. Una vez se visualizan las diferentes fracciones en el embudo se procede a hacer la separación. La fracción que permanece disuelta en agua-etanol se lleva al embudo y se le adiciona nuevamente acetato de etilo, en este caso 100 ml. La extracción se repite tres veces más con 100 ml de acetato de etilo cada vez. En este paso se obtiene una fracción soluble en agua-etano y otra en acetato de etilo; esta ultima es la fracción medianamente polar; aquí se pueden obtener clorofilas, flavonoides, alcaloides, coumarinas y otros compuestos de interés. De la fracción más polar, la soluble en agua-etanol, se pueden obtener flavonoides, glicósidos, taninos, fenoles, sales inorgánicas y azúcares libres, entre

otros. Cada fracción se concentra a presión reducida y temperatura controlada (50°C) y luego se cuantifica al pesarla en una balanza de precisión. La concentración se realiza hasta donde la formación de espuma lo permite (Figura 1).

Los precipitados que se forman en el proceso se aislan y se evalúa su solubilidad en etanol o acetato de etilo; la parte soluble en acetato de etilo se adiciona a la fracción correspondiente y la parte soluble en etanol permanece como una fracción independiente. Cada fracción se almacena en nevera en frascos oscuros, debidamente rotulados. La fracción soluble en agua - etanol se lleva hasta un contenido de etanol cercano al 15% V/V.

Preparación de las concentraciones para los bioensayos. Para preparar una solución diluida a partir de una solución concentrada se emplea la fórmula $P_1 \times C_1 = P_2 \times C_2$

Donde P es peso en gramos y C concentración en ppm



Y: C_1 = Concentración del extracto total
 C_2 = Concentración deseada (25, 50, 75,...ppm)

P_2 = Peso al que se llevará la concentración (100 g por ejemplo)

Entonces:

$$P_1 = (P_2 \times C_2) / C_1$$

Una vez se tiene el peso necesario del extracto total, se adiciona etano o agua hasta completar los gramos a los que se lleva la concentración.

BIOENSAYOS CON *Artemia salina* Leach.

Materiales y equipos. En los bioensayos con *Artemia salina* Leach. se emplean los siguientes materiales y equipos: bomba aireadora, instalación eléctrica con bombillos de 40 watts, cubeta plástica (16 x 35 x 12 cm), frascos pequeños, malla de tul, pipetas, agitadores de vidrio, embudo, papel filtro, lupa de escritorio, lámpara para lupa, balanza de precisión, huevos de *A. salina*, levadura seca, sal de mar comercial, bicarbonato, agua destilada y extractos vegetales.

Metodología. Para los bioensayos con *Artemia salina* Leach se sigue la metodología propuesta por Meyer *et al.* (1982) y Gupta *et al.* (1995).

En la preparación de las concentraciones se procede así:

- Se hace el cálculo de la concentración tomando como peso final 10 g. En cada vial se aplica el

peso correspondiente, la muestra se seca con ayuda de un secador eléctrico. Una vez seca se adiciona agua de mar hasta completar 10 g, se agita y se adicionan 20 nauplios por vial. Al agitar se debe tener especial cuidado en emplear agitadores diferentes para cada muestra (especie). Dentro de cada muestra se agita de menor a mayor concentración.

- El agua de mar artificial se prepara en agua destilada con sal de mar comercial, 3,8 g de sal por 100 ml. de agua. La sal se disuelve con una bomba de aire y luego se filtra. A la salmuera se le adiciona 1 g de bicarbonato para aumentar el pH.
- En un recipiente plástico se colocan 50 mg de huevos de *Artemia salina* Leach en 1 litro de agua de mar. Al recipiente se le acondiciona una pared divisoria con pequeñas perforaciones de 2 mm de diámetro. Se coloca una bomba de aire con burbujeo lento y una bombilla encendida, para aumentar la temperatura del ambiente.
- Pasadas 48 horas, tiempo en el cual se inicia la incubación, se oscurece el lado más grande del recipiente envolviéndolo en una bolsa plástica de color negro. Debido al fototropismo, los nauplios que van eclosionando pasan a través de los orificios al lado de la luz, facilitando su captura al concentrarse hacia el punto más iluminado y separado del lado

oscuro, donde quedan las conchas que recubren los huevos.

- Los nauplios se colectan con una pipeta, facilitándose su conteo a contraluz. El número de nauplios empleados para cada repetición es de 20 por ser el número adecuado para un análisis Probit.
- A cada botellita se adicionan 10 ml de agua de mar, la concentración y una gota de suspensión de levadura (3 mg de levadura seca en 5 ml de agua de mar artificial).
- Las botellitas se colocan en un lugar iluminado y limpio, cubierto con una malla de tul para disminuir el polvo y los insectos atraídos por la luz. El conteo de mortalidad se realiza a las 24 horas.
- Se incluye un testigo, el cual sólo contiene agua de mar y un blanco que contiene etanol.

Los resultados de los bioensayos se evalúan con el programa Probit para determinar la LC50. LC50 menores de 1000 ppm se consideran promisorias en la evaluación de actividad biológica y a partir de ellas se seleccionan las especies vegetales con las que se continuará el proceso de fraccionamiento y los bioensayos con los insectos.

PREPARACION DE LOS TRATAMIENTOS PARA LA EVALUACION DE LOS EXTRACTOS VEGETALES SOBRE LOS INSECTOS PLAGA

Materiales y equipos: En la preparación de los tratamientos para emplear en los bioensayos con el insecto plaga seleccionado se emplean los siguientes materiales: balanza, secador, atomizadores plásticos, frascos pequeños oscuros, agua destilada, extractos vegetales, tensoactivo (Tween 80).

Metodología: Para cada concentración en ppm se calcula la cantidad de extracto a emplear teniendo como peso final 100 g de solución, el cual se completa con agua. A cada tratamiento se le adiciona un tensoactivo, 0,125 ml de Tween 80, para facilitar la dispersión del extracto con agua. Como la cantidad de extracto que se emplea incluye un porcentaje de etanol, se procede a eliminar el alcohol de la concentración mediante una corriente de aire forzada, antes de disolverla en agua destilada. El blanco incluye 0,125 ml de Tween 80 y agua, la misma cantidad que se adiciona a cada tratamiento para evaluar la posible toxicidad del tensoactivo. El testigo es rociado sólo con agua.

La metodología a seguir en la construcción de jaulas, aplicación del tratamiento, evaluación de mortalidad o fagoinhibición, etc. depende del insecto sobre el cual se quiere realizar la evaluación, pues se encuentra condicionada por el tamaño del insecto, estado de desarrollo, hábito de alimentación, comportamiento, etc. Algunas de estas están ya estandarizadas y otras requieren ajuste experimental.

Para la evaluación de los bioensayos se calcula la LC50 a partir de la metodología Probit del programa estadístico SAS.

CASO EXPERIMENTAL - EVALUACION DEL POTENCIAL INSECTICIDA DE CINCO ESPECIES FORESTALES

La metodología descrita fue empleada por Morales (1997), en la evaluación del potencial de acción biocida de 5 especies arbóreas o arbustivas, *Guarea guidonia* (L.) Sleumer y *Trichilia hirta* L. (Meliaceae), *Machaerium moritzianum* Benth. (Fabaceae), *Swinglea glutinosa* Merrill. (Rutaceae) y *Mammea americana* L. (Clusiaceae). Se utilizó para los bioensayos iniciales el microcrustáceo *Artemia salina* Leach como indicador del potencial biocida, con el fin de seleccionar las dos especies más promisorias a partir de las LC50 obtenidas. Con las dos se realizaron los bioensayos para evaluar la acción fagoinhibidora en la hormiga arriera *Atta cephalotes* (L.) y el posible control de *Alconeura* sp. (Homoptera: Cicadellidae), insecto chupador que afecta la ceiba verde *Pseudobombax septenarium* (Jacq.) Dugand (Bombacaceae), especie forestal importante como ornamental.

De las cinco especies vegetales iniciales se encontró que las dos muestras con mayor actividad biológica sobre *A. salina*, representada en la menor LC50, fueron *S. glutinosa* con

una LC50 de 23.78 ppm y *M. moritzianum* con una LC50 de 145.73. Seguidas de *Mammea americana* L. que presentó una LC50 de 383.11 ppm. Las meliaceas *Guarea guidonia* (L.) Sleumer y *Trichilia hirta* L. presentaron una LC50 mayor de 1000 ppm lo que las sitúa fuera del rango de las especies promisorias en este estudio de metabolitos secundarios activos presentes en el follaje. Las fracciones con mayor actividad biológica sobre *A. salina* fueron éter de petróleo, acetato de etilo y etanol de *S. glutinosa* y acetato de etilo de *M. moritzianum* (Tabla 1).

El mayor efecto insecticida sobre *Alconeura* sp. lo presentó la fracción acetato de etilo de *M. moritzianum* con una LC50 de 4.147 ppm, seguido de la misma fracción de *S. glutinosa* con una LC50 de 5.178 ppm (Tabla 2).

La mayor actividad fagoinhibidora sobre *Atta cephalotes* L. se observó en las fracciones de *S. glutinosa* fracción éter de petróleo 2.000 ppm, *M. moritzianum* extracto total 2000 ppm, *S. glutinosa* fracción acetato de etilo 2000 ppm, *M. moritzianum* fracción acetato de etilo 2000 ppm, *S. glutinosa* fracción éter de petróleo 1000 ppm, *S. glutinosa* fracción acetato de etilo 1000 ppm y *M. moritzianum* extracto total 1000 ppm. A los extractos *S. glutinosa* fracción etanol 2000 ppm y *M. moritzianum* fracción éter de petróleo 2000 ppm no se les comprobó actividad fagoinhibidora (Tabla 3).

Tabla 1. Concentración letal LC50 para los diferentes extractos sobre *A. salina*

EXTRACTOS	LC50
<i>Swinglea glutinosa</i> Merrill.	
Total	23,78
Fracción acetato de etilo	0,0036
Fracción éter de petróleo	6
Fracción etanol	10,503
Fracción agua-etanol	218,28
<i>Machaerium moitzianum</i> Benth.	
Total	145,73
Fracción acetato de etilo	0,036
Fracción éter de petróleo	1045
Fracción agua-etanol	1045
<i>mmea americana</i> L.	383,11
<i>Guarea guidonia</i> (L.) Sleumer	8,949
<i>Trichilia hirta</i> L.	4,765

Tabla 2. Concentración letal LC50 para los diferentes extractos sobre *Alconeura sp.*

EXTRACTOS	LC50
<i>Swinglea glutinosa</i> Merrill.	
Total	10,121
Fracción acetato de etilo	5,178
Fracción éter de petróleo	6,211
<i>Machaerium moritzianum</i> Benth.	
Total	6,903
Fracción acetato de etilo	4,113
Fracción éter de petróleo	11,745

Tabla 3. Clasificación de los extractos según su actividad fagoinhibidora sobre hormiga arriera *Atta cephalotes* L.

Fagoinhibición	Especie	Fracción	ppm	Dif. (%)
ALTA	<i>S. glutinosa</i>	Extracto total	2.000	42,2
	<i>S. glutinosa</i>	Eter de petróleo	2.000	37,2
	<i>M. moritzianum</i>	Extracto total	2.000	33,8
	<i>S. glutinosa</i>	Acetato de etilo	2.000	31,1
MEDIA	<i>M. moritzianum</i>	Acetato de etilo	2.000	25,0
	<i>S. glutinosa</i>	Eter de petróleo	1.000	24,0

	<i>S. glutinosa</i>	Acetato de etilo	1.000	22,8
	<i>M. moritzianum</i>	Extracto total	1.000	21,7
BAJA	<i>S. glutinosa</i>	Etanol	2.000	12,3
	<i>M. moritzianum</i>	Eter de petróleo	2.000	11,5

Los resultados permiten concluir que los extractos químicos obtenidos a partir de las especies vegetales seleccionadas para evaluar el potencial biocida y de fago-inhibición mostraron eficiencia sobre *Alconeura* sp. y *Atta cephalotes* L.

CONCLUSIONES

- Esta metodología es de fácil aplicación, bajos costos y rápidos resultados, habiendo mostrado resultados positivos para este tipo de ensayos. Permitiendo evaluar muchas especies de los ecosistemas forestales, como una alternativa para un uso más racional e integral de los recursos del bosque.
- Estas metodologías facilitan la evaluación de sustancias con posibilidades farmacéuticas o industriales permitiendo capitalizarlas en favor del país, evitando la piratería de sus recursos biológicos.
- El análisis Probit es una herramienta confiable en la evaluación de los resultados para este tipo de ensayos.
- Las evaluaciones de toxicidad sobre *Artemia salina* Leach son replicables en los ensayos posteriores sobre otros organismos vivos.

BIBLIOGRAFIA

ATEHORTUA, L. Retrospectiva de los plaguicidas de origen vegetal. p. 186-225. En: XXI CONGRESO SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA. (21:1.994: Medellín). Memorias del XXI Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. Medellín: Socolen, 1994.

BELLES, X. Insecticidas biorracionales. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 1988. 405 p.

CORREA Q., J. A. Función protectora de los metabolitos secundarios en las plantas. p. 226-251. En: XXI CONGRESO SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA. (21:1.994: Medellín). Memorias. Medellín: Socolen, 1994.

GROS, E. G. *et al.* Introducción al estudio de los productos naturales. Washington: Secretaría General de los Estados Americanos, 1985. 145 p.

GUPTA, MAHABIR P.; DEL BARRIO, L. S. R.; PINZON, R. Bioensayo de toxicidad en *Artemia salina*. Chile: s.n., 1995. 4p.

HOSS, Reynaldo. Guía metodológica: uso de extractos vegetales en la regulación de plagas. Lima: Red de Acción de Alternativa al Uso de Agroquímicos, 1992. 39 p. (Cuaderno de trabajo; No. 1).

HOWE, H. F. and WESTLEY, L. C. Ecological relationships of plants and animals. New York: Oxford University, 1988. 273 p.

MEYER, B. N. *et al.* Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. En: Planta Médica. Journal of Medicinal Plant Research. Vol 45. (1982); p.31-34.

MORALES S., León. Determinación de los estados de desarrollo de un Homoptera-Cicadellidae sobre *Pseudobombax septenatum*. Informe asignatura morfología de insectos. Medellín : s.n., 1994. 11 p.

MORENO, M. B. *et al.* Estudios de la potencial actividad insecticida de algunas especies nativas. Y. Evaluación de los extractos de *Brunfelsia pauciflora* (H.B.K.). *En: Revista Colombiana de Entomología*. Vol 21, No.1 (1995); p.45-50.

VALENCIA, E. Importancia ecofisiológica y evolutiva del sistema de Oxidasas de función mixta (MFO) en insectos: control biológico en Colombia, historia, avances y proyecciones. 1993. p. 263-273.

VERGARA R., R.A. y MADRIGAL C., A. Estado actual y futuro de los extractos de plantas para el control de plagas. *En: XXI CONGRESO SOCIEDAD COLOMBIANA DE ENTOMOLOGÍA*. (21:1994: Medellín). Memorias del XXI Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. Medellín: Socolen, 1994.

WARREN G., A. *Plant-animal interactions*. New York: McGraw Hill, 1989. 479p.