



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE  
SAN NICOLÁS DE HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO  
BIOLÓGICAS

LAS MADERAS SECAS DE ENCINO (*Quercus* spp) Y PINO  
(*Pinus* spp) SON PROTEGIDAS DEL DAÑO CAUSADO POR  
*Lyctus* spp E *Incisitermes marginipennis* CON EXTRACTOS  
VEGETALES ACUOSOS

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
OPCIÓN  
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

PRESENTA

M. C. DAVID RAYA GONZÁLEZ

TUTOR: DR. MAURO MANUEL MARTÍNEZ PACHECO  
CO-TUTOR: DR. JOSE GUADALUPE RUTIAGA QUIÑONES

MORELIA MICHOACAN, SEPTIEMBRE DE 2007.

## INDICE GENERAL

1. Las maderas secas de encino ( <i>Quercus</i> spp) y pino ( <i>Pinus</i> spp) son protegidas del daño causado por <i>Lyctus</i> spp e <i>incisitermes marginipennis</i> . con extractos vegetales acuosos. ....	1
2. Anti-termite activity of an aqueous extract from the heartwood of <i>Enterolobium cyclocarpum</i> (Jacq) Griseb. ....	49
3. Resultados adicionales .....	61
3.1. Presencia de <i>Lyctus planicollis</i> y <i>L. linearis</i> en México.....	61
3.2. El extracto acuoso de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> (Jacq.) Griseb. protege madera seca contra insectos xilófagos barrenadores.....	82
3.3. Un extracto acuoso de <i>Melia azedarach</i> L. protege a la madera seca de <i>Quercus laurina</i> del ataque de <i>Lyctus planicollis</i> .. ....	97
3.4. Efecto disuasivo de un extracto acuoso de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .....	110
3.5. Constituyentes químicos de un extracto acuoso de madera de duramen de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> .....	132

**Las maderas secas de encino (*Quercus spp*) y pino (*Pinus spp*) son protegidas del daño causado por *Lyctus spp* e *incisitermes marginipennis*. con extractos vegetales acuosos.**

## **INTRODUCCIÓN**

En un presente donde el avance tecnológico generado por la innata curiosidad del hombre en la incesante búsqueda de una vida cotidiana confortable, ha puesto en gran riesgo a los recursos naturales del planeta, con disturbios y anomalías globales en los ecosistemas y en el clima, que el planeta no ha podido amortiguar. Un recurso natural renovable hoy en día en crisis existencial, es el bosque y el abuso que de él se hace para la obtención de madera, uno de los materiales de construcción (habitación y enceres domésticos) mas antiguos que a acompañado al hombre en la faz de la Tierra. Donde la velocidad de extracción de la madera es mayor que la velocidad de regeneración que tiene el bosque, un desequilibrio de consecuencias funestas.

La relación entre la explotación de un bosque en sociedades con una excesiva dependencia por los recursos naturales de la región es un problema multifactorial. Sin embargo en una visión simplista, una acción para disminuir la velocidad de explotación de los bosques es aumentando la vida útil del producto maderable con el uso de preservadores no tóxicos que protejan la madera, tal vez hasta por mas de cinco décadas, tiempo promedio en que especies maderables alcanzan su madurez fisiológica. De igual forma debe de conservarse y protegerse la madera puesta en la obra civil y de artículos maderables con el propósito evitar el frecuente reemplazo de piezas de madera dañada que se lleva al cabo en el mantenimiento de esa infraestructura. Para inducir una actitud racional para el

consumo de productos maderables, la tala inmoderada y la extracción de madera disminuya y el bosque se encuentre en posibilidad de una regeneración natural.

Por otra parte, las sustancias utilizadas en la preservación de la madera son liposolubles y tóxicas para el hombre y el medio ambiente, ya que los preservadores y los residuos derivados de maderas preservadas son un problema ecológico, para los cuales no se han puesto en práctica la legislación actual. La protección de la madera seca implica al menos cuatro aspectos generales; Normatividad para la distribución, uso y aplicación de preservadores, disminución de extracción de madera del bosque, evitar la pérdida económica causada por el biodeterioro y uso de preservadores menos tóxicos al ambiente. La idea fundamental de consumir madera seca preservada con sustancias no tóxicas que garanticen un tiempo de vida útil mayor y una disminución en la pérdida económica causada por el deterioro producido por hongos e insectos barrenadores de madera seca, es un propósito que motiva la búsqueda de sustancias alternativas que desplacen a los preservadores convencionales.

Este último tópico fue desarrollado en este trabajo que consistió en entender explorar la posibilidad de encontrar nuevas moléculas con propiedades anti barrenador de madera de *Melia azedarach* L. una especie de la familia de *Azadiracta indica* (Neem) una especie exitosamente utilizada en el control de insectos, y de *Nerium oleander* L. ambas especies son de introducción y ampliamente difundidas en el país. Así como entender el porque la madera de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq) Griseb (parota) es resistente al biodeterioro a través de estudiar los componentes esenciales de un extracto obtenido de duramen de este árbol para tomarlos como modelo para proteger la madera de baja durabilidad como la de encino y pino del biodeterioro del daño que causan algunos barrenadores de madera seca.

### ***Características de la madera***

La madera es un conjunto muy complejo de componentes químicos (Brown *et al.*, 1952). Esta constituida por macromoléculas que conforman la pared celular, estas son celulosa, hemicelulosas y lignina; y los componentes de bajo peso molecular, los que a su vez se dividen en materiales inorgánicos, también llamados “cenizas” debido a que es necesario, para su cuantificación, eliminar el material orgánico por combustión; y materiales orgánicos a los que comúnmente se les llama extractivos o extraíbles, estos se pueden separar de la madera por extracción con agua, con solventes orgánicos polares y no polares y en ocasiones con ácidos y álcalis (Fengel y Wegener, 1989; Hillis, 1971).

### **Resistencia de la madera.**

La resistencia natural de la madera contra organismos xilófagos depende principalmente, de ciertas sustancias con gran poder fungicida o insecticida que están incrustadas en las células del leño. Estos componentes corresponden a grupos químicos muy diferentes y casi siempre son de estructura bastante complicada (Kraemer, 1958).

La madera, al igual que toda la materia proveniente de seres vivos, puede ser degradada por diversos organismos (factores bióticos) así como por agentes físicos y químicos (factores abióticos). Esto no significa que no pueda proporcionar un servicio prolongado, el cual si la madera no esta impregnada con preservadores ya sea de tipo hidrosolubles o de origen vegetal, depende de su durabilidad natural y del empleo de buenas medidas de diseños constructivos.

La durabilidad natural de la madera se define como su capacidad intrínseca para resistir el ataque combinado de factores bióticos y abióticos que la degradan en condiciones de servicio. Esta propiedad varia entre diferentes especies, así la madera puede clasificarse desde susceptible hasta muy durable (Ver Cuadro 1).

Cuadro 1. Clasificación de durabilidad de la madera en contacto con el suelo.

CLASE	DEFINICION	CLIMA TEMPLADO	CLIMA TROPICAL
		Años	Años
1	Muy durable	>25	>15
2	Durable	15 - 25	10 - 15
3	Moderadamente durable	10 - 15	5 - 10
4	No durable	5 - 10	1 - 5
5	Perecedero	<5	<2

Fuente: Chudnoff, 1984; COMACO, 1994 y Encinas 2004.

También la durabilidad natural de la madera varia en el tronco del mismo árbol, en el que existen diferencias entre la albura y el duramen. El duramen contiene extractivos, los cuales son compuestos químicos naturales que le proporcionan su color y olor característicos y además son repelentes a insectos y hongos permitiendole resistir en mayor o menor grado los ataques de estos organismos (Reyes *et al.*, 1987). Sólo el duramen de algunas angiospermas es muy durable, mientras que la albura de todas las especies se considera como no durable (Scheffer,1973).

Se emplea el concepto de resistencia natural, cuando se refiere a la capacidad de una madera para resistir el ataque de un agente degradador en particular como puede ser un hongo o un insecto.

***Producción de madera en México.***

México cuenta con una superficie arbórea primaria de 93'933,127 h, de las cuales el 40 % (37'595,246 h) corresponde a los bosques tropicales 20 % (18,797,623 h), selvas 19 % (17,792,279 h) y otras asociaciones tropicales 1 % (1'005,344 ha) (Anónimo, 2000e). Aunque en la actualidad no se cuenta con un inventario nacional o estatal, donde se especifiquen las especies, distribución, aprovechamientos maderables y de agroforestería,

para tener una idea de cuales podrían ser los volúmenes aproximados de materia prima y desperdicios de cualquier especie tropical que se desee investigar. El Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) publicó los volúmenes de extracción de madera en la república mexicana en el 2004, (Cuadro 2).

Cuadro 2. Extracción de madera en la república mexicana hasta el 2005.

Entidad Federativa	Encino	Otras Coníferas	Otras Latifoliadas	Oyamel	Pino	Preciosas	TOTAL
Durango	304,436	14,019	20,075	0	2,033,324	0	2,371,589
Chihuahua	175,098	2,309	0	0	1,913,641	0	2,091,048
Michoacán	143,021	2,327	35,562	105,358	1,108,494	0	1,394,762
México	24,518	9,961	5,991	180,061	384,258	0	604,789
Oaxaca	11,766	0	428	2,223	561,470	517	578,659
Otras	259,765	8,636	125,577	124,777	1,505,485	44,045	2,388,688
TOTAL	918,604	37,252	187,633	412,419	7,506,672	44,562	9,429,800
63.7%; $585,151 \text{ m}^3/\text{R} \times 0.5 = 292,576 \text{ m}^3$ de madera aserrada de albura de encino susceptible de ataque de insectos xilófagos.							

INEGI 2006.

## PRESERVACIÓN DE MADERA

Históricamente se han ensayado métodos químicos para la preservación de la madera con el fin de aumentar el tiempo de vida útil. Para contrarrestar el deterioro causado por factores físicos, como la temperatura, la humedad o el fuego o bien como por factores bióticos, donde el control de plagas está en función del organismo que se intenta controlar. Los plaguicidas son uno de los aspectos que se consideraron para preservar la madera seca del biodeterioro, el Código Internacional de Conducta Sobre la Distribución y Uso de Plaguicidas de la Food and Agriculture Organization (FAO) de las Naciones Unidas establece que un plaguicida es la sustancia o mezcla de ellas, destinada a prevenir, destruir

o controlar plagas, incluyendo los vectores de enfermedad humana o animal; las especies no deseadas de plantas o animales que ocasionan un daño duradero u otras que interfieren con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte y comercialización de alimentos; los artículos agrícolas de consumo, la madera y sus productos, el forraje para animales o los productos que pueden administrárseles para el control de insectos, arácnidos u otras plagas corporales». Por tanto, la finalidad de los plaguicidas es controlar ciertos organismos vivos, constituyéndose así como un grupo particular de los biocidas que puede alcanzar una capacidad letal amplia. En el cuadro 3 se muestra el consumo nacional de plaguicidas utilizados en la preservación y conservación de madera seca.

Las sustancias utilizadas tienen estructuras químicas diversas con diferentes modos de acción, pueden aniquilar al organismo blanco o pueden afectar su crecimiento o ser desagradables al gusto, al olfato o la vista, por ejemplo en la importante área de la protección y cuidado de la madera y subproductos, contra bacterias, hongos, insectos y condiciones ambientales, los preservadores de madera se clasifican en tres tipos: aceites naturales, oleosolubles e hidrosolubles (Cockcroft y Henningson, 1983; Anónimo, 1986a). Actualmente en México en el control de los barrenadores de la madera seca se utilizan, el pentaclorofenol, las sales hidrosolubles CCA (cobre, cromo, arsénico) y los compuestos oleosolubles (creosota), que son productos de gran persistencia, son tóxicos al ambiente y colorean la madera por éstos productos lo que limita su uso (Vignote y Jiménez, 1996). En el Cuadro 4 se describe la efectividad y toxicidad de los principales compuestos derivados de los preservadores químicos actuales. Adicionalmente la madera de deshecho que previamente ha sido preservada es un problema importante en la contaminación del medio ambiente, pues los preservantes son lixiviados y puestos en contacto con el suelo.



Cuadro 3. Consumo nacional de plaguicidas utilizados en la preservación y conservación de madera seca

Consumo nacional de 36,000 Tm/año 490 plaguicidas comerciales 458 Permitidos por la Norma Oficial Mexicana 32 son estrictamente prohibidos	Composición de los plaguicidas comerciales (Uso regulado en México pero prohibido en 49 países)
Usos de los plaguicidas comerciales 370 marcas son de uso agrícola 70 marcas son de uso urbano y pecuario 50 marcas son de uso doméstico, industrial y forestal	Clordano DDT y Pentaclorofeno Lindano Paraquat Paration metílico
Un gran número de los principios activos de los insecticidas son <i>liposolubles</i>	

Cuadro 4. Toxicidad y efectividad de compuestos químicos contra degradadores de madera seca

PRESERVADOR	TERMITAS	ESCARABAJOS	TOXICIDAD AL SER HUMANO
Creosota	+	+	MT
Penta clorofenol	+	+	AT
Naftanato de cobre	-	-	LT
Quinolinolanoato de cobre	-	-	LT
Oxido de terbutil de estaño	+	+	MT
Sales ACC	+	+	LT
Sales CCA	+	+	ND

Continuación del cuadro 4

Sales ACA	+	-	MT
Sales CZC	-	-	ND
Sales FCAP	-	-	AT
Sales de boro	+	-	LT

Anónimo, 1994b  
 AT = Altamente tóxico  
 MT = Moderadamente tóxico  
 LT = Ligeramente tóxico  
 ND = No determinada

**LOS PLAGUICIDAS NATURALES**

Los historiadores han seguido el uso de pesticidas hasta la época de Homero, alrededor de 1000 años A.C., pero los primeros registros de insecticidas corresponden a la quema de azufre como fumigante. Plinio *el Viejo* (A.D. 23-79) registró la mayoría de los primeros usos de insecticidas en su *Historia Natural*. Entre ellos incluyó el uso de una agalla de una lagartija verde para proteger las manzanas de gusanos y pudriciones. Más tarde, encontramos una cantidad de materiales usados con resultados cuestionables: extractos de pimienta y tabaco, agua jabonosa, aguacal, vinagre, trementina, aceite de pescado, salmuera, y lejía entre otras.

Los distintos tratamientos empleados en la preservación de la madera conllevan a la utilización de diversas sustancias que puedan suponer un riesgo hacia el medio ambiente y la salud humana. Por ello se considera necesario identificar y conocer el contenido de estos compuestos contaminantes en los residuos de madera tratada así como la afección potencial asociada a la presencia de estos. Así la Sociedad Pública de Gestión Ambiental en el 2005, gestionó una Caracterización Química de los residuos de madera tratada y el resultado se

muestra en el cuadro 5, es importante señalar los productos como el DDT y el pentaclorofenol, productos que han sido retirados del mercado por su gran persistencia en el medio ambiente y su dificultad para su degradación y sin embargo se siguen usando en la formulación de plaguicidas.

Cuadro 5. Caracterización química de residuos de madera tratada.

MATERIA ACTIVA ANALIZADA	RESULTADOS DE LA MUESTRA 1 mg/kg	RESULTADOS DE LA MUESTRA 2 mg/kg
B	2.68	5
Pb	ND	3.4
Cd		0.07
Cr		1.8
Cu		5.7
Ni		0.74
Zn		20
Ti		50
As y Hg		1
Benceno		3
Etilbenceno	900	1000
<i>m</i> -xileno	3300	3400
<i>o</i> -xileno	800	
<i>p</i> -xileno	510	520
Tolueno	800	820
Naftaleno y acenaftileno y acenafteno	0.05	
Fluoreno	0.10	0.09
Fenentreno	0.23	0.20
Antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno+benzo(j)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, Benzo(a)fluoranteno Indeno(1,2,3-c,d)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo(g,h,i)perileno	0.05	
Pentaclorofenol	0.001	ND
Pentaclorofenato sódico	0.198	ND
Aceite mineral C10-C40	740	800
Aldrín y DDT	0.01	
Fenoles	10	

Fuente: Sociedad Pública de Gestión Ambiental, 2005.

ND: Valor no determinado

Al comienzo de la II Guerra Mundial (1940), nuestra selección de insecticidas se limitaba a varios arsenicales, aceites de petróleo, nicotina, piretro, rotenona, azufre, gas de cianuro de hidrógeno, y criolita. La II Guerra mundial fue lo que abrió el control de la *Era de la Química Moderna* con la introducción de un nuevo concepto en el control de insectos los insecticidas orgánicos sintéticos, el primero de los cuales fue el DDT.

Podemos imaginar que entre los primeros intentos usados por nuestros primitivos antepasados para reducir las molestias causadas por los insectos estuvieron: hacer hogueras que produjeran humo o aplicar barro o polvo sobre su piel para repeler los insectos que los picaban o les causaban irritación, una práctica parecida a los hábitos de los elefantes, cerdos, y búfalos de agua. Hoy, tales prácticas se clasificarían como *repelentes*, una categoría de los *insecticidas*.

Los insecticidas naturales también representan riesgos y beneficios, los cuales es necesario considerar, así como sus formas de uso.

Numerosos químicos se producen naturalmente y funcionan en algún grado como insecticidas. Están presentes en la mayoría de los organismos vivos, desde las algas azul-verdes, hongos y las angiospermas.

Los compuestos son tan variados como las plantas de las cuales han sido aislados y el rango de su efecto protector va desde repelencia, disuasión de la alimentación y oviposición hasta toxicidad aguda e interferencia con el crecimiento y el desarrollo de los insectos.

Los insecticidas vegetales presentan la gran ventaja de ser compatibles con otras opciones de bajo riesgo aceptables en el control de insectos, tales como feromonas, aceites, jabones,

hongos entomopatógenos, depredadores y parasitoides, entre otros, lo que aumenta enormemente sus posibilidades de integración a programas de Manejo Integrado de Plagas.

La actividad biológica de un compuesto natural está en función de su estructura y en la dosis usada para tales fines. Las principales compuestos aislados de plantas usadas desde hace mucho tiempo están indicados en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Tipos de insecticidas obtenidos de plantas

ESPECIE	COMPUESTO ACTIVO	EFEECTO	AUTOR
* <i>Azadirachta indica</i> (Nim)	Azadirachtina, meliantról y salanina	Antialimentario, regulador de crecimiento, inhibidor de la oviposición y repelente	(Koul <i>et al.</i> , 2004) (Parrotta y Chaturvedi 1994) (Silva, 2000)
* <i>Annona cherimola</i> (Miller) (Chirimoya)	-pineno, -terpinoleno, alcohol -fenchílico y □-pineno	Antialimentario	(Martín <i>et al.</i> , 2000) (Ríos <i>et al.</i> , 2003)
<i>Chrysanthemum cinaerifolium</i>	Piretrinas	Insecticida, Inhibidor de la oviposición y repelente	(Silva, 2000)
* <i>Eucalyptus spp.</i> (Eucalipto)	Cineol eucaliptol, y monoterpenos	Insecticida y fungicida	
* <i>Lonchocarpus utilis</i> (Barbasco)	Rotenona	Insecticida de contacto, ingestión y repelente	
* <i>Lonchocarpus castilloi</i> (Machiche)	Flavonoides: Castilleno A, B, C, D y E	E y D son Antialimentarios	(Reyes <i>et al.</i> , 1995)
<i>Nicotiana tabacum</i>	Nicotina	Insecticida de contacto no persistente	(Maggy, 2004)

\* Son árboles

### ***Agentes del biodeterioro de madera seca.***

La madera seca sin preservar esta sujeta al deterioro causado por agentes bióticos tales como bacterias, hongos e insectos. Siendo los insectos barrenadores los que causan el mayor daño a la madera seca que hacen que pierda sus propiedades mecánicas de resistencia y durabilidad. Los lictidos y las termitas son los insectos mas devastadores de la madera que se conocen, ellos causan una gran pérdida económica en todo el mundo. Se presentan varias especies de lictidos y termitas, algunos son cosmopolitas y otros son endémicos, todos han sido difíciles de controlar y los métodos de control cada vez son mas radicales. En este trabajo se puso especial atención al barrenador de madera seca de pino *Incisitermes marginipennis* Latreille que se alimenta preferentemente de celulosa y al barrenador de madera seca de encino *Lyctus planicollis* LeConte que se alimenta preferentemente de almidón. Ambos insectos viven dentro de la madera donde cumplen su ciclo de vida y solo salen al exterior en la época de apareamiento, reproducción y colonización de nuevos nichos. Una característica que ha hecho difícil su control y detección es que ambos insectos cumplen su ciclo de vida dentro de la madera y solo salen de ella cuando se encuentran en la fase de reproducción.

### **Termitas de madera seca.**

Las termitas (Insecta, Isoptera) son, conjuntamente con los Himenópteros (hormigas y abejas), el único grupo de insectos que presentan una organización social en sus comunidades con una biología compleja y fascinante.

La estructura social de sus comunidades conjuntamente con el hábitat (madera) sin una elevada competencia y críptico, que ocupan y explotan, hace que este grupo de insectos presente un elevado potencial biológico, ecológico y económico.

La celulosa es el componente principal en la dieta de las termitas, la que a su vez es un elemento extensamente utilizado y de gran valor económico. El hallazgo de una infestación de termitas en un edificio o vivienda es a lo menos perturbador y destructivo, razón por la cual es suficiente para mantenerlas fuera de estructuras y edificaciones.

El daño económico que causan las termitas sobrepasa los dos billones de dólares anuales en Estados Unidos (Wiseman y Eggleton, 1994)

Las termitas afectan cinco veces más casas que los incendios y provocan un daño económico mayor que los tornados, huracanes y tormentas en conjunto, al dañar guardapolvos, pisos, muebles, marcos, puertas, ventanas, vigas, pilares estructurales y decorativos, alfombras, papel mural, libros, ropa, polietileno expandido, yeso y pinturas.

En Francia el daño más el costo de control alcanza los 325 millones de dólares al año (Clement, 2000). El costo promedio asciende a 4,700 dólares por tratamiento de 100 m<sup>2</sup> de construcción.

En Australia el daño alcanza entre los 40 y 50 millones de dólares, un país de tan solo 18 millones de habitantes. (Wiseman y Eggleton, 1994).

En nuestro país cálculos efectuados indican que el daño por la termita alcanza a los 28.5 millones de dólares solo en la Región Metropolitana. (Wiseman y Eggleton, 1994)

Las características más importantes de las termitas de madera seca, es que sus colonias permanecen durante toda la vida en las estructuras de la madera y no tienen contacto con el suelo.

### **Biología de las termitas.**

Las termitas que se alimentan de la madera y dependen de microorganismos que viven en su aparato digestivo, estas pertenecen a las llamadas termitas “inferiores”. El resto de termitas, que son la mayoría, se consideran “superiores” porque han desarrollado otras estrategias para la obtención de alimentos y aparentemente han prescindido de sus simbiontes internos, ver la Figura 1. Las cuales ya no se alimentan únicamente de celulosa sino de una variada dieta que incluye hojas, fruta fresca, fruta seca, y bacterias del suelo, pese a que carecen de simbiontes bacterianos. También se nutren de productos a base de lignina y celulosa, los principales componentes de la madera. Estas termitas se alimentan de hongos que ellas mismas cultivan, los cuales contienen nitrógeno, carbono y otros nutrientes, el hongo contiene enzimas que permiten a la termita superior digerir la madera.



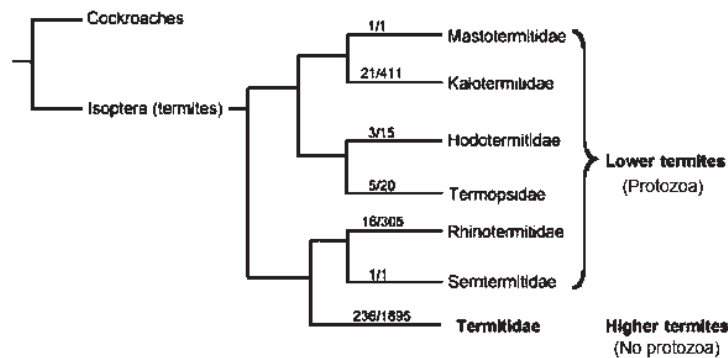


Figura 1. Esquema filogenético de las termitas Abe y col., 2000.

Las comunidades de termitas superiores viven en nidos (termiteros) constituidos por cuatro tipos morfológicos de individuos (castas); los reproductores primarios, los reproductores suplementarios, los soldados y las obreras. Una colonia de termitas está compuesta por la pareja real, algunos reproductores suplementarios, un gran número de obreras y soldados y los individuos inmaduros en diversas fases de desarrollo (ninfas). Las ninfas que emergen del huevo son equipotentes, y la casta a la que pertenecerán vendrá determinada por factores sociales y ambientales.

Los reproductores primarios, son individuos alados con el sistema reproductor completamente desarrollado, poseen una coloración más obscura que las demás castas ya que su tegumento está más endurecido. Cuando las condiciones ambientales son las adecuadas, los nuevos alados producidos abandonan el nido, formando enjambres, para dispersar y formar nuevas parejas reproductoras.

Los reproductores primarios son los responsables de la fundación de la colonia, lo que implica un complejo repertorio conductual exclusivo de esta casta. La pareja real controla la estructura social de la comunidad, mediante feromonas que inhiben la formación de nuevos reproductores suplementarios, soldados u obreras.

Los reproductores suplementarios son individuos con alas reducidas o sin alas, con el tegumento no tan endurecido ni pigmentado como el de los reproductores primarios. Su aparición se da cuando la población de las obreras y soldados es muy alta. Se transforman en reproductores primario.

Las termitas inmaduras blancas son los más jóvenes o primeros estadios, no muestran esclerotización en el cuerpo y dependen de sus compañeras obreras que las alimentan con una dieta líquida.

Los soldados están especializados en la defensa de la colonia. Poseen la cabeza fuertemente pigmentada y esclerotizada con grandes mandíbulas. Los soldados son dependientes de las obreras para su alimentación y no poseen sistema reproductor desarrollado.

Las obreras son individuos estériles, machos o hembras, en los cuales no se ha desarrollado el aparato reproductor. Su apariencia es similar a las ninfas pero las obreras trabajan para la colonia en la alimentación y el cuidado de la descendencia y en la construcción del nido.

Expelen las heces desde las galerías, las que se acumulan en el suelo en pequeños montones. Pueden presentarse varias colonias en una viga o puerta. Atacan preferentemente en el interior de las viviendas y edificios.

Al iniciar una colonia una pareja de alados, requiere de cinco años para producir los primeros alados reproductivos. Las colonias se incrementan lentamente a partir de una pareja.

El grupo de las termitas inferiores tal como las pertenecientes al género *Incisitermes* no tienen un nido centralizado. Al parecer las colonias funcionan como una sociedad interrelacionada pero descentralizada. Es probable que formen unidades satélite con reproductores neoténicos junto a una fuente de alimento, distante de la zona central de la colonia, las que luego se pueden aislar de la colonia madre. Una colonia de las *Incisitermes* puede considerarse como una red de poblaciones de varios tamaños, localizadas generalmente dentro o alrededor de fuentes de alimento, conectadas por un sistema de caminos o galerías a otros centros de actividad variable. Las termitas del género *Incisitermes* presentes en México se encuentran en el Cuadro 7.

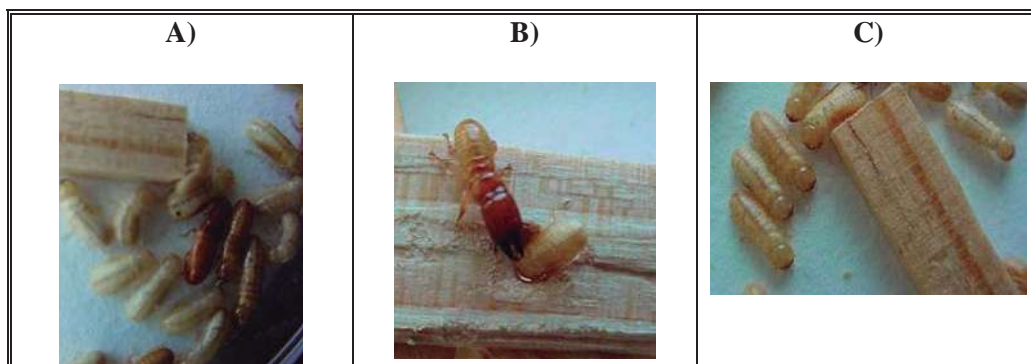


Figura 2. Estadios biológicos de *Incisitermes marginipennis* (Latreille) A) Reproductores, de color rojizo, B) Soldado) y C) Ninfas.

Cuadro 7. Termitas de madera seca del género *Incisitermes* encontradas en la República Mexicana y algunos de sus microorganismos intestinales identificados.

TERMITAS DE MADERA SECA	MICROBIOTA INTESTINAL
<i>Incisitermes banksi</i> (Snyder)	<i>Coronynpha octonaria</i> , <i>Metacoronynpha senta</i> , <i>Tricercomitus divergens</i>
<i>Incisitermes milleri</i> (Emerson)	<i>Tichonynpha chattani</i>
<i>Incisitermes minor</i> (Hagen)	<i>Metadesvescovina cuspidata</i> , <i>Monocercomonas</i> <i>sp.</i> , <i>Oxymonas minor</i> , <i>Staurojoenia assimilis</i> , <i>Tricercomitus divergens</i>
<i>Incisitermes nigrinus</i> (Snyder)	Sin información
<i>Incisitermes marginipennis</i> (Jacq) Griseb	Sin información
<i>Incisitermes arizonensis</i> (Snyder)	Sin información
<i>Incisitermes emersoni</i> (Light)	Sin información
<i>Incisitermes immigrans</i> (Snyder)	<i>Coronynpha octonaria</i> , <i>Metacoronynpha senta</i> , <i>Tricercomitus divergens</i>
<i>Incisitermes platycephalus</i> (Ligth)	Sin información
<i>Incisitermes schwarzi</i> (Banks)	<i>Trichonynpha chattani</i>
<i>Incisitermes seeversi</i> (Snyder y Emerson)	Sin información
<i>Incisitermes snyder</i> (Ligth)	Sin información

### Biología del *Lyctus* spp

En el ciclo de vida del *Lyctus* el mayor daño lo hace en forma de larva la cual vive dentro de la madera alimentándose del almidón contenido en la células parenquimatosas donde se ubican las sustancias de reserva de las especies maderables que contienen altos porcentajes de almidón (más de 1.5 %). El *Lyctus* para lograr alimentarse practica galerías destruyendo la madera y dejando tras de si un polvo muy fino parecido al talco (Vignote y Jiménez, 1996).

Cuando las larvas completan su desarrollo alcanzan una longitud de 4 a 6 mm y se ubican cerca de la superficie de la madera para pupar, durando en este estado dos semanas. El ciclo se completa cuando las larvas se convierten en escarabajos adultos que emergen perforando la última capa de madera y una vez fuera, buscan aparearse, después las hembras depositan los huevecillos en los poros de la madera, los cuales eclosionan en una semana o dos completando así su ciclo de vida de alrededor de un año (Figura 3). Cada hembra deposita en la madera un promedio de 70 huevecillos, explicándose con esto que el aumento del daño pueda ser muy grande de una generación a la siguiente. Las emergencias y oviposturas ocurren a finales del invierno y principios de la primavera (Cibrián y col. 1995). La época de vuelo del insecto adulto es en primavera y verano según los climas (Kraemer, 1958).

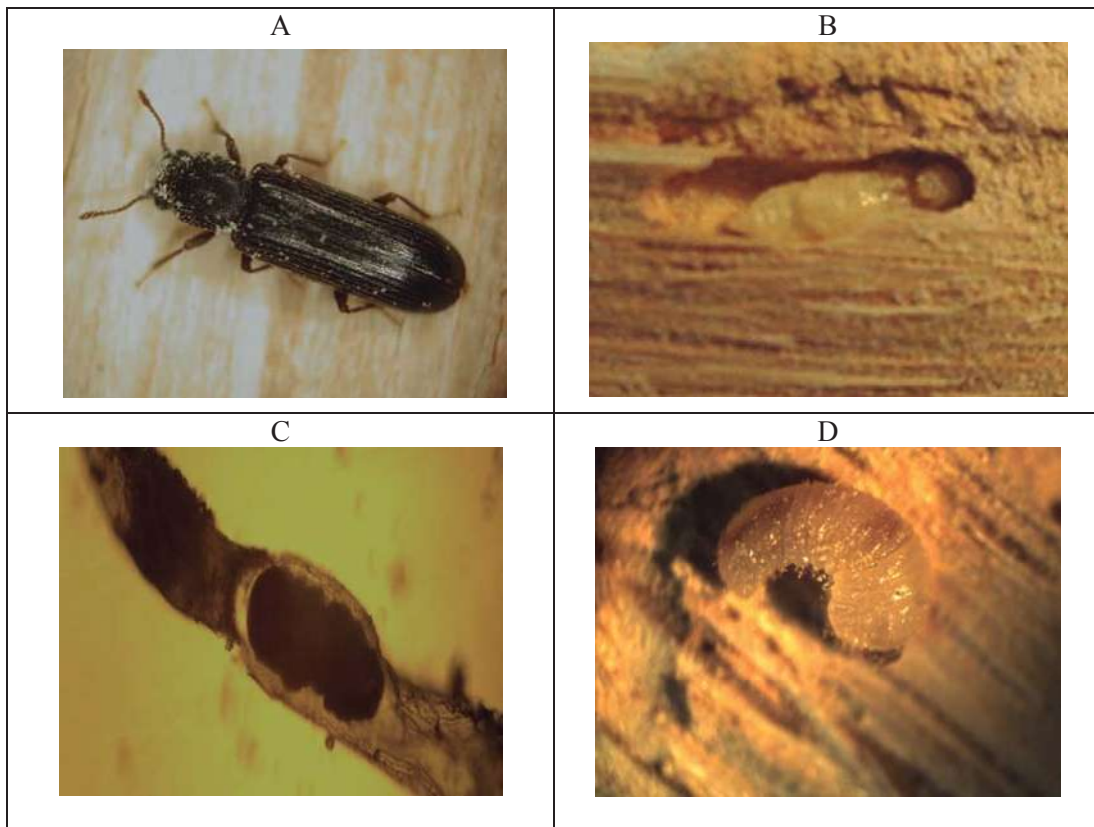


Figura 3. Ciclo de vida de *Lyctus planicollis* A) Adulto, B) Huevo, C) Larva y D) Pupa.

La madera de *Quercus spp* (encino) es susceptible al ataque de *Lyctus sp.* incluso, es dañada aún cuando la madera ha sido procesada y convertida en muebles finos y otros artículos, esto sucede frecuentemente cuando los productores de muebles no preservan la madera con algún preservador que evite el ataque de este insecto. La madera que ha sido infestada pierde sus características mecánicas y en unos cuantos años queda convertida en polvo aunque externamente no se manifiesten emergencias sobre todo si aun no hay orificios de emergencias de adultos; estos orificios son de 0.5 a 1mm de diámetro (Cibrián y col.1995).

Las especies de *Lyctus* que se conocen y habitan en otros lugares del mundo son: *L. africanus* Lesne, *L. cavicollis* LeConte, *L. chilensis*, nueva especie, *L. cineris* Blanchard, *L. linearis* (Goeze), *L. longicornis* Reitter, *L. opaculus* LeCont, *L. parvulus* Casey, *L. planicollis* LeConte, *L. praeustum* Erichson, *L. simplex* Reitter, *L. tomentosus* Reitter, *L. villosus* Lesne, *L. politos* Graus, *L. spinifrous* Stebb, *L. parasiticus* Steph., *L. colydioides* Dej., *L. glycyrrhizae* Chev., *L. disputans* Wlk., *L. rugulosus* Montr., *L. jatrophae* Woll, *L. costatus* Black. y *L. carolinae* Csy (Halperin,1977).

***Quercus laurina* Humb. et. Bompl.**

Nombre botánico: *Quercus laurina* Humb. et. Bompl.

Familia: Fagáceas

Nombre común: encino

Subgénero: Erythrobalanus

Árbol de 10 a 25 m de largo, diámetro puede alcanzar hasta 100 cm (Martínez, 1981); ramillas de 2 a 4 mm de grueso, con tomento amarillo cuando son jóvenes, en la madurez de color café oscuro y con pocas lenticelas amarillentas; yemas ovoides, agudas, glabras de color café rojizo, de 2 a 4 mm de largo; estípulas oblanceoladas, tubuladas, escamosas café rojizo, pubescentes, de 3 a 4 mm de largo; hojas jóvenes cubiertas por pelos simples, rojizos, con pubescencia, dispersas y pelos estrellados; hojas maduras coriáceas y rígidas, de verdes a ligeramente cafés, lustrosas, de elíptico-oblanceoladas a lanceoladas, de 3.3 a 14.5 cm de largo por 1 a 5 cm de ancho, agudas o atenuadas, generalmente con una arista de 2 mm de largo en el ápice, base redondeada, subcordada o subaguda, márgenes engrosados, enteros, o bien con aristas, dientes o seraciones en la mitad superior de la hoja, 5 a 13 nervaduras laterales a cada lado, envés de color verde a verde amarillo brillante casi

glabro, excepto por mechones de pelos en los ángulos que se forman entre las nervaduras laterales y la nervadura central; peciolos de 0.8 a 3.6 cm de largo, con abundante tomento amarillo; fruto bianual, solitario o en pares, sobre un corto pedúnculo de 3 a 8 mm de largo, involucre hemisférico de 10 a 17 mm de diámetro por 7 a 10 de largo, escamas leñosas de canescentes a casi glabras, bellota corta, ovoide de 15 a 20 mm de largo por 15 a 17 de ancho.

En Michoacán su distribución es continua a lo largo de la Cordillera Neovolcánica y en pequeños manchones en la parte sur de la Depresión del Río Lerma, así como en la parte central y Oeste de la Sierra Madre del Sur. En México se encuentra en los estados de Colima, Guerrero, Jalisco, Estado de México, Nayarit, Oaxaca y Sinaloa. Su hábitat comprende laderas de cerro, barrancas húmedas, sitios montañosos entre 1500 a 3200 msnm, (SMARNAT, 2006) suelos generalmente profundos, someros, rara vez rocosos; en ocasiones forma parte del bosque mesófilo de montaña, visiblemente asociado a otras especies de encino como *Q. rugosa*, *Q. candicans*, *Q. martinezzi*, *Q. magnoliafolia* y en bosques de coníferas se asocia con: *Pinus pseudostrobus*, *P. montezumae*, *P. michoacana* y *P. leiophylla* y con algunas especies de oyamel y otras (Bello y Labat, 1987).

Los usos a los que esta destinada esta especie en la actualidad son: muebles, astilla para celulosa, cabos de herramientas, leña, carbón y postes para cercas. La identificación de la especie fue realizada por Xavier Madrigal Sánchez Profesor de la Facultad de Biología de la Universidad Michoacana de san Nicolás de Hidalgo.



### *Pinus spp*

Nombre común: Pino

Familia: Pinaceae

Árboles: Miden desde 5 a 50 m de altura y de 30 cm hasta 1 m de diámetro. Copa cónica y corteza en varias tonalidades de castaño a castaño rojizo (dependiendo de las especies), fisurada en los pinos blandos (Haploxyton) y fisurada en placas en los duros (Diploxyton).

Distribución: Crecen en los bosques de coníferas del Hemisferio Norte y en México es el género con el mayor número de especies y más ampliamente distribuido (Cordillera de Baja California, Sierra Madre Occidental, Sierra madre Oriental, sierra madre del Sur y Eje Neovolcánico). Las maderas del grupo Diploxyton (pinos duros) de mayor importancia comercial son: *Pinus michoacana*, *P. pseudostrobus*, *P. patula*, *P. douglasina*, *P. leiophylla*, *P. lawsonii*, *P. montezumae*, *P. oocarpa*, *P. pringlei*, *P. teocote* y *P. arizonica*; de las del grupo Haploxyton (pinos blandos): *P. strobus chiapensis* (actualmente muy escasa), y *P. ayacahuite* que forma manchones entre Bosques de oyanel (*Abies religiosa*) y, de los blandos piñoneros: *P. cembroides*, *P. nelsonii*, *P. pinceana* y *P. monophylla*. En Michoacán a excepción del *P. ayacahuite*, que se distribuye e en la región oriente, el resto de las especies pertenecen al grupo Diploxyton (pinos duros) y de los pinos duros las maderas que más se comercializan son las de *P. michoacana* y *P. pseudostrobus* (Guridi y Madrigal, 2007) (Sometido a publicación).

### **Pinos blandos (Grupo Haploxyton)**

*Pinus ayacahuite* var. *veitchii* Shaw. Ayacahuite

Es miembro del grupo *Pinus*, subgénero *Strobus*, árbol de hasta 40 m de altura (inclusive 50 m) por 1 m de diámetro, de ramas extendidas y verticiladas; corteza grisácea y lisa en

los árboles jóvenes, áspera y de color moreno rojizo en los viejos, dividida en placas irregulares (Guridi y Madrigal, 2007) (Sometido a publicación).

### **Pinos duros (Grupo Diploxyton)**

*Pinus pseudostrabus* Lindl. Pino Cantzimbo

*Pinus michoacana* Martínez. Pino Michoacano, Pino cedrón

Madera: En la mayoría no hay diferencia de color entre albura y duramen; el color generalmente varía del blanco amarillento al crema, amarillo pajizo, rosa pálido a rojizo, más oscuro en la madera tardía que en la temprana y dependiendo de la especie. El olor es resinoso, el sabor ligeramente amargo, brillo medio a ocasionalmente alto, hilo recto a veces irregular por la presencia de nudos, textura fina y veteado de muy pronunciado en los pinos duros a pronunciado en los blandos, determinada por el tipo de transición de los anillos de crecimiento, abrupta en los primeros y gradual en los segundos.

Los canales resiníferos visibles a simple vista, están distribuidos irregularmente en todo el anillo, aún cuando en ocasiones se localizan predominantemente en la madera temprana o bien en la tardía y pueden llegar a ser muy numerosos en especies muy resinosas (*P. lawsonii*, *P. pringlei* y *P. leiophylla*) (Guridi y Madrigal, 2007) (sometido a publicación).

### **Propiedades tecnológicas**

En general (y dependiendo del grosor de los anillos de crecimiento y la proporción de madera tardía) se considera que puede ser blanda y ligera (en los pinos blandos) a moderadamente dura y pesada (en los pinos duros), que es fácil de trabajar, adquiere un

buen acabado, se seca rápidamente y es más o menos estable, aunque tiende a rajarse en las proximidades de los nudos, no es duradera y no resiste el ataque de hongos e insectos.

Usos: Es la madera, que junto con los eucaliptos (*Eucalyptus* spp.) y los encinos (*Quercus* spp.), se destina en México para la fabricación de pulpa para papel, así como para madera aserrada, madera terciada (triplay), duela, lambrín, parquet, y en algunos estados de la República Mexicana para muebles rústicos y techos de viguería, juguetes, artesanías y cada vez con menos frecuencia en la construcción de casa. A nivel nacional, se considera que uno de los pinos blandos de mayor importancia maderable es el *P. ayacahuite*, cuya madera ha sido muy apreciada, para la fabricación de muebles estilo colonial mexicano. Respecto a los pinos duros, cuyas maderas se destinan para uso estructural, hay que citar que el *P. pseudostrobus*, por presentar una transición más o menos gradual, textura fina muy fina y brillo alto, lo cual le confiere características muy adecuadas, debería dársele un uso de mayor valor agregado (muebles, artesanía fina y utensilios de cocina) y no el estructural al cual se le destina actualmente. Otra madera perteneciente a los pinos blandos es el *P. strobus chiapensis*, muy apreciada por su color café claro con tinte rosado, transición gradual, textura muy fina y canales resiníferos muy escasos y muy pequeños, lo cual propició que se le haya sobreexplotado para la fabricación de muebles y puertas por lo que ahora es tan escaso (Guridi y Madrigal, 2007) (Sometido a publicación).

. La resina (trementina) se emplea en la fabricación de aguarrás y brea. El género *Pinus* se ha utilizado con éxito en diversos programas de reforestación (Niembro, 1990).

***Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.**

Nombre botánico: *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.

Sinonimia: *Mimosa cyclocarpa*, Jacq. *Mimosa parota*, Seseé y Moc.

Familia: Leguminosae (Mimosoideae).

Nombres comunes: El árbol de *E. cyclocarpum* es conocido como guanacaste, guanacastle, nacaste, necaste (del náhuatl cuaunacastli, nombres más comúnmente usados en toda su área de distribución). Dependiendo de la región es conocido con diferentes nombres, en Michoacán, Jalisco, Guerrero y Oaxaca es conocido con el nombre de parota; en San Luis Potosí, se le dan los nombres de orejón, tíyohu y nacascuahuitl; en Sinaloa: huanacaxtle y huinecaxtle; en Tamaulipas se le llama cascabel y cascabel sonaja, en Veracruz lo nombran cuytátsuic, nacastle y orejón; en Oaxaca se le conoce como aguacaste, lash-matz-zi, ma-ta-cua-tze, mo-cuadzi, mo-ñi-no, ya-chibe; en Tabasco se le llama charamusquillo y picho; este último nombre también lo recibe en Chiapas y en Yucatán se conoce con el nombre de pich (Pennington y Sarukhan, 1968; Corral, 1985).

**Descripción de la especie**

El *E. cyclocarpum* es un árbol caducifolio de rápido crecimiento que llega a medir hasta 30 m de altura y su diámetro a la altura del pecho (d.a.p) va de 0.60 hasta 3 m., su tronco es recto y a veces con pequeños contrafuertes en la base, las ramas son ascendentes y forman una copa hemisférica, frecuentemente más ancha que alta; la corteza externa es lisa a granulosa y en ocasiones ligeramente fisurada, de color gris claro a gris parduzco, con abundantes lenticelas alargadas, suberificadas, dispuestas en hileras longitudinales. La corteza interna es de color crema rosado, con textura granulosa, desprende un exudado

pegajoso y dulzón que se coagula al contacto con el aire. El grosor total de la corteza es de 20 a 30 mm (Pennington y Sarukhan, 1968).

Las ramas jóvenes son de color verde a moreno grisáceas, glabras, con abundantes lenticelas protuberantes, longitudinales y suberificadas. Las hojas poseen yemas de 1 a 2 mm., son agudas cubiertas por un par de estipulas de 2 a 3 mm. de largo, filiformes de color verde oscuro pubescentes y caedizas. Las hojas están dispuestas en espiral, bipinnadas, de 15 a 40 cm. de largo incluyendo el pecíolo, con 5 a 10 pares de folíolos primarios opuestos, cada foliolo compuesto por 15 a 35 pares de folíolos secundarios sésiles de 10 X 3 a 16 X 4 mm., linear-lanceolados, asimétricos, con el margen entero, ápice agudo mucronato, base truncada o asimétrica; generalmente el último par de folíolos secundarios unguilados; verde brillante y glabros en el haz y verde grisáceo y pubescentes en las hojas nuevas en el envés; glándulas cóncavas presentes a la mitad del pecíolo y entre algunos pares de folíolos, caquis primario y secundario pubescentes, los últimos acanalados en el haz. Los árboles de esta especie pierden las hojas cuando fructifican, de febrero a abril (Pennington y Sarukhan, 1968).

Las flores están dispuestas en cabezuelas axilares de 1.5 a 2 cm. de diámetro, sobre pedúnculos escasamente pubescentes de 1.5 a 3.5 cm. de largo. Son flores actinomorfas; cáliz verde, de 2.5 a 3 mm. de largo, tubular con 5 a 6 dientes ovados muy pequeños, escasamente pubescentes en la superficie exterior; corola verde claro de 5 a 6 mm. de largo, tubular, expandida en la parte superior en 5 lóbulos valvados, lanceolados, agudos, ciliolados; estambres numerosos, de 1 a 1.2 cm. de largo, glabros, unidos en la mitad inferior en un tubo del mismo largo que la corola; filamentos blancos, anteras verdes; ovario superior alargado, unilocular, multiovular, glabros; estilo delgado, glabro, más largo que los estambres y torcido en la parte superior; estigma simple. Sus frutos son vainas de 7

a 12 cm. de diámetro, aplanadas y enroscadas, leñosas, moreno oscuras, brillantes de olor y sabor dulce, que contiene numerosas semillas ovoides y aplanadas de 2.3 X 1.5 cm, morenas brillantes con una línea pálida con la forma del contorno de la semilla, rodeadas por una pulpa fibrosa y dulce (Pennington y Sarukhan, 1968). El fruto es considerado como un excelente alimento para ganado vacuno, y algunas veces cocinado se usa como alimento humano. Tanto el fruto como la corteza tienen un alto contenido de taninos (Corral, 1985).

### **Distribución de la especie**

Se encuentra ampliamente distribuida en la vertiente del Golfo desde el sur de Tamaulipas hasta la península de Yucatán, y en la vertiente del Pacífico desde Sinaloa hasta Chiapas. Es difícil relacionar esta especie con algún tipo de vegetación primaria; se encuentra en zonas de vegetación perturbada en selvas altas perennifolias y medianas subperennifolias al parecer en asociaciones primarias de selvas medianas subcaducifolias y caducifolias (Pennington y Sarukhan, 1968).

### **Características organolépticas de la madera**

La madera presenta diferencia de color entre la albura y el duramen la albura es de color blanco con jaspeaduras castañas y el duramen es castaño claro; olor y sabor picante, brillo mediano, veteado pronunciado, textura gruesa, hilo recto a entrecruzado y zonas de crecimiento no diferenciadas (Guridi, 1980; Corral, 1985).

### **Características anatómicas microscópicas de la madera**

Los poros son visibles a simple vista, poco numerosos, de distribución difusa, la mayoría solitarios múltiples radiales de 2 a 7, tangenciales de 2 a 3 y agrupados de 3 a 5

con diámetro tangencial mediano. Los elementos de vaso son de longitud corta, sus paredes presentan puntuaciones areoladas alternas con aberturas coalescentes y placa perforada simple. Algunos taponados con gomas.

El parénquima axial es visible a simple vista, de tipo vasicéntrico y en bandas confluentes. Presenta pequeños cristales de tipo romboidal, en células especializadas semejantes a las de aceite.

Los rayos son visibles con lupa, son de tipo homogéneo de baja altura y de anchura angosta de 1 a 3 series, siendo más abundantes los de 2; los radios uniseriados son de 2 a 17 células de altura, siendo más abundantes los de 7.

Las fibras son de dos tipos: libriformes y fibrotraqueidas, muchas septadas siendo más abundantes las fibrotraqueidas, su longitud y diámetro mediano, y grosor de pared delgado (Corral, 1985).

### **Propiedades físicas de la madera**

Es considerada como ligera (Corral, 1985) a moderadamente pesada (Paniagua, 1990; Fuentes, s/f). Echenique y Plumptre (1994) reportan una densidad básica (peso anhidro/volumen verde) entre 0.39 y 0.56 g/cm<sup>3</sup>, valores que coinciden con el reportado por Fuentes (s/f) de 0.45 g/cm<sup>3</sup>; Green (1998) de 0.34 g/cm<sup>3</sup> y Benítez y Montesinos (1988) con un valor de 0.35 g/cm<sup>3</sup>.

Benítez y Montesinos (1998) reportan una contracción radial total ( $\beta_r$ ) 2.0%, contracción tangencial ( $\beta_t$ ) 5.2%, relación contracción tangencial/radial 2.6 y una contracción volumétrica total ( $\beta_v$ ) 7.2%. Por su parte corral (1985) considera una contracción volumétrica total ( $\beta_v$ ) baja, la tangencial ( $\beta_t$ ) como media y la radial ( $\beta_r$ ) como

baja. Fuentes (s/f) reporta valores de 5.4% de  $\beta_t$  y de 3.0% de  $\beta_r$  y Green (1998) de 5.2% de  $\beta_t$ , de 2.0% de  $\beta_r$  y 7.2% de  $\beta_i$ .

### **Propiedades mecánicas de la madera**

Corral (1985) considera a la madera de *E. cyclocarpum* como de baja resistencia a la flexión estática; Echenique y Plumptre (1994) reportan un MOE de 71,000 a 100,000 Kg/cm<sup>2</sup> y un MOR de 401-1350 kg/cm<sup>2</sup>; mientras que Green (1998) reporta valores de 1050,000 Psi (73,500 Kg/cm<sup>2</sup>) a un 12% de CH y 610,000 Psi (42,700 kg/cm<sup>2</sup>) en estado verde para el MOE y de 8,500 Psi (595 kg/cm<sup>2</sup>) a un 12% CH y 5,030 Psi (352.1 kg/cm<sup>2</sup>) en estado verde para el MOR.

Su resistencia a la compresión paralela a la fibra es baja con 301-450 Kg/cm<sup>2</sup> de máxima resistencia a la compresión (MCS) Echenique y Plumptre (1994); Green reporta valores de 4900 Psi (343 Kg/cm<sup>2</sup>) a un CH del 12%. La resistencia a la compresión perpendicular a la fibra también se considera como baja (Corral, 1985).

Dureza Janka (en estado verde) lateral es de 159 Kg, extremos 172 Kg de acuerdo con Benitez y Montesinos (1988). El valor de dureza Janka reportado por Green (1998) es de 520 lb (235.87 Kg) a un contenido de humedad de 12%.

### **Características químicas de la madera**

La madera de *E. cyclocarpum* es una de las mas ricas en sustancias extractivas con un contenido de 32.4% al ser sometida a extracción secuencial. Las extracciones con diferentes solventes nos indican los siguientes porcentajes: hexano 0%, cloroformo 0%, acetona 14.88%; etanol-agua (No.1) 0.64%; metanol 4.6% y agua (No. 2) 1.98%. Ante el análisis de antocianidinas se muestran manchas rojas típicas de estos compuestos, en todos



los extractos solubles en los solventes ya indicados; estas manchas también manifestaron un máximo de absorción en el espectro visible lo que indica la probabilidad de la presencia de pelargonidina. Presenta además polifenoles: flavanoides y no flavonoides (Ochoa y col.1995).

### **Durabilidad natural de la madera**

Echenique y Plumptre (1994) consideran a esta madera como poco durable a moderadamente durable, resistente a la pudrición y el ataque de hongos e insectos en el suelo, de 5-14 años en climas templados y de 1-5 en climas tropicales. La madera de albura es considerada como no durables.

Por otro lado, se ha encontrado que el extracto etanolico del duramen de esta especie presenta una actividad fungicida de 80 y 72% para *Trametes versicolor* (causante de pudrición blanca), 90 y 71% para *Coniophora puteana* (causante de pudrición parda), 82 y 65% para *Chaetomium globosum* (causante de pudrición suave) 82 y 60% para *Trichoderma viride* (moho de la madera) en concentraciones de 1 y 0.1 g/lt respectivamente. Estos datos nos indican una alta resistencia al ataque de hongos (Rutiaga y col.1995).

En cuanto a la resistencia al ataque de insectos, Lyn y col. (1975) determinan una supervivencia de termitas del 0% alimentadas con aserrín no extraído y extraído (pentano, acetona y una mezcla pentano-acetona-agua) siendo una de las especies de mayor resistencia.

## **Usos de la madera**

Es una especie protegida por el hombre al usarla como árbol de sombra en áreas ganaderas o agrícolas. Su madera es fácil de trabajar, se usa para obtener tablas y vigas para construcciones rurales, para la elaboración de utensilios de cocina como bateas; para la construcción de canoas y de ruedas de carreta. Industrialmente se usa para la fabricación de duela y lambrín, chapa y madera aserrada. Artesanalmente se utiliza para la elaboración de artículos diversos como: muebles coloniales, muebles tallados a mano, puertas, barandales de escaleras, barrotes protectores, biombos, tapas de cajas de armazón de pino lacio, ya sea en cigarreras o bien en alhajeros con incrustaciones de otras maderas, queseras con tapa de plástico, platitos botaderos, porta vasos, tablas para picar verdura, aisladores de calor en una sola pieza o ensamblada generalmente con madera de fresno y con agarraderas de mecate, repisas, recaderos, toalleros y calendarios (Pennington y Sarukhan, 1968; Guridi, 1980; Corral, 1985).

Las semillas contienen aproximadamente 36% de proteína y en algunos lugares se emplean como forraje y como complemento alimenticio para animales. La corteza contiene taninos y se utiliza para curtir pieles. El fruto contiene saponina y se usa localmente como sustituto del jabón para lavar ropa (Niembro, 1990).

Para el hombre diseñar métodos para el control de plagas e insectos que sean efectivos y sin impacto ambiental negativo así como económicamente accesibles le ha sido difícil. Inicialmente utilizó extractos crudos vegetales y sales minerales hasta llegar a los pesticidas sintéticos, que hoy en día se han vuelto un problema de contaminación y deterioro ambiental, una realidad terrible que ha inducido un amplio replanteamiento tecnológico para el control de plagas. Así pues, una alternativa para el control de plagas y patógenos indeseables son los metabolitos secundarios vegetales producidos por las plantas

en su ciclo de vida para su comunicación o para la supervivencia o para su defensa contra patógenos, plagas y predadores. Particularmente aquellos metabolitos extraídos de árboles y plantas utilizados en la medicina tradicional de los pueblos en algunas infecciones de humanos o de árboles con una probada durabilidad natural al deterioro.

En la actualidad no existe un criterio definido que indique cuantas especies vegetales se localizan en México, ni cuantas de ellas son utilizadas en la medicina tradicional o que poseen propiedades atractivas para la comodidad humana. Las plantas son una fuente de metabolitos secundarios los cuales potencialmente pueden desplazar a la mayoría de los compuestos utilizados en la actualidad que son tóxicos para el ser humano o que no son biodegradables a corto plazo, por compuestos de origen natural alternativos que posean modos de acción molecular diferente, que sean biodegradables y amigables con el medio ambiente y que no representen peligro para el usuario. Al respecto, este trabajo muestra un esfuerzo para hacer un planteamiento en el control de algunas plagas mediante la exploración de las propiedades biocidas de dos especies arbóreas que crecen en la región, una es autóctona, *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq). Griseb. con el nombre local de “parota” y cuyo duramen posee una durabilidad natural al biodeterioro y la otra, *Melia azedarach* L. de reciente introducción a la región y originaria de Asia, de quien se conoce parcialmente su composición fitoquímica y algunas propiedades biocidas.



Figura 4. Árbol de *Enterolobium cyclocarpum* localizado en Nueva Itália Michoacán.

***Melia azedarach* L.**

Nombre botánico: *Melia azedarach* L

Familia: Meliaceae

Nombre común: Paraíso

*Melia azedarach* L. (Figura 1), es una especie nativa del sur de Asia, se le encuentra desde Irán hasta China, en América se distribuye de California hasta la Argentina, en África Oriental y Occidental, el sureste Asiático y Australia. Es un árbol pequeño de 6 a 15 m de altura y de 30 a 40 cm de diámetro, su fuste es recto, cilíndrico y copa densa, el sistema radicular es superficial y amplio, utilizado como ornato, las hojas son compuestas y alternas, con olor fuerte característico al estrujarlas. Las flores son numerosas y de color púrpura claro. Los frutos son drupas redondeadas, cada fruto contiene de 1 a 5 semillas de color café oscuro, los frutos son venenosos y tienen propiedades narcóticas. Esta especie crece en climas tropicales, subtropicales y templados cálidos, con temperaturas media anuales de 22 a 27°C.

Su madera posee un alto poder calorífico de 5100 kcal/kg, y se utiliza para la producción de carbón, de pulpa para papel, muebles, escaparates, chapas de la madera contrachapada y cajas para cigarrillos. Las flores y frutos tienen propiedades insecticidas, de los frutos se obtiene aceite combustible y las semillas se utilizan en artesanías. Es una especie introducida en nuestro país, que se desarrolla de 1.5 a 2 m/año en altura y tiene un rendimiento de 110 m<sup>3</sup>/ha de leña y 176 m<sup>3</sup>/ha de madera en 15 años. Crece naturalmente en áreas libres de maleza y exigentes a la luz solar, florece durante todo el año, la época de producción de semilla es de enero a mayo (Anónimo, 2006d). Por lo tanto tiene gran potencial en el aprovechamiento de sus frutos y hojas para la preparación de insecticidas naturales.



Figura 1. Árbol de *M. azedarach*, localizado en Huandacareo Mich.

### Otros usos

Entre las especies más estudiadas se encuentra *Melia azedarach* L. (paraíso) cuyos extractos afectan negativamente la alimentación, el desarrollo y supervivencia de numerosas especies de insectos. Se han probado los extractos acuosos de los frutos maduros

y hojas amarillas de ésta planta contra *Spodoptera eridania* (Cramer), que es una especie polífaga y defoliadora de vegetales de importancia económica como cítricos, girasol, haba, tomate y zanahoria, encontrando que el extracto eliminó el 100% de las larvas tratadas sin que ninguna de ellas llegara a pupar (Rossetti y col., 2006). Las especies madereras tropicales producen metabolitos que las protege contra el biodeterioro y que les dan una durabilidad natural, como ejemplo, la madera de teca (*Teutona grandis*) ampliamente utilizada en la construcción de embarcaciones por su resistencia, estabilidad y durabilidad que le confiere una sustancia con actividad antitérmita llamado tectoquinona (Thomson, 1978 citado por Rutiaga, 1991). También se ha probado la actividad anti-fungicida de los extractos de la madera de duramen de *Enterolobium cyclocarpum* extraídos con ciclohexano, etanol y agua, contra hongos que atacan la madera.

### ***Nerium oleander* L.**

Nombre botánico: *Nerium oleander* L.

Familia: Apocynaceae.

Nombre común: Laurel, narciso, adelfa.

*Nerium oleander* L. Arbusto de 3 a 6 m de altura, perenifolio, originario del Mediterráneo, Se cultiva en diversas regiones tropicales y subtropicales de México. El principal uso del *N. oleander* es como planta de ornato en calles, parques y jardines por la belleza de sus flores de color blanco, rosado o rojo.

Todas las partes de la planta contienen dos glucósidos extremadamente tóxicos: neriosida y oleanderosida, los cuales actúan como estimulantes del corazón. En muy pequeñas dosis la infusión que se obtiene del cocimiento de las flores se utiliza en medicina casera como remedio en casos de afecciones cardíacas, aunque esta práctica resulta peligrosa ya que dosis mayores provocan náuseas, vómito, mareo, diarrea con sangre, inconciencia y finalmente la muerte.

El agua destilada de la corteza y de las hojas posee una acción narcótica y sedante, aunque a veces una sola hoja es suficiente para matar un caballo o una vaca (Niembro, 1990).



Figura 4. Planta de *Nerium oleander* L. localizado en Morelia, Michoacán.

## **JUSTIFICACIÓN**

La madera es un tejido exclusivo de los vegetales leñosos, que como tales tienen diferenciados y especializados sus tejidos. Estos están formados por celdas que son huecas, en el que la pared del tubo se correspondería con la pared celular y el interior hueco con el lumen de la celda. De forma simple y general se puede decir que la madera está formada principalmente por la unión de estas celdas; su tamaño, forma y distribución junto con otros elementos anatómicos, como los radios leñosos, la presencia de canales resiníferos o de vasos, etc. son los que dan lugar o definen las diferentes especies de madera. Esta estructura tubular es la que confiere las propiedades de cada madera, que dependen en gran medida de

las características de las células constituyentes, como su longitud, diámetro, espesor de la pared celular, contenidos y disposición. Es en estas estructuras es donde se depositan los preservadores que se aplican para hacer mas duraderas las maderas con escasa durabilidad natural (Wissel, 2006).

La madera se preserva con el objetivo de protegerla contra el ataque de insectos, hongos, bacterias, taladradores marinos que destruyen la madera (agentes xilófagos). Se conoce este proceso como curado, preservado inmunizado, tratamiento preservador o impregnación de la madera. Los agentes destructores son por una parte los hongos xilófagos que se alimentan de la madera consumiéndola y por último insectos y animales que utilizan la madera como nido o casa, tal es el caso de los pájaros carpinteros y hormigas carpinteras para los cuales no protege la preservación.

La madera, al estar compuesta de celdas entre cuyas paredes se acumula savia y en general humedad, debe estar seca por lo menos al 30% de contenido de humedad (CH), antes de preservarla, para que exista el espacio donde introducir la solución preservante. Los procesos que se utilizan se conocen con el nombre de impregnación por inmersión, difusión y vacío-presión para este último se necesita de una autoclave (Wissel, 2006).

El valor económico de la preservación de la madera se ha demostrado por la duración de servicio, porque la vida útil de la madera tratada se aumenta varias veces en comparación con la madera sin tratamiento. En México las principales industrias que utilizan madera preservada son: Ferrocarriles, Teléfonos, Comisión Federal de Electricidad, Compañías Petroleras, Constructoras y de Muebles y cuando esta madera es retirada del servicio no se tiene una normatividad para el control de estos residuos que generalmente son utilizados como combustible y como resultado se contamina el medio ambiente. En los últimos años algunas de las sustancias preservadoras usadas en el tratamiento han sido objeto de



reglamentación, que van desde la prohibición de su uso hasta restricciones en cuanto a sus aplicaciones. Esto se debe a los nuevos conocimientos generados recientemente sobre los efectos nocivos que tienen ciertos fungicidas y pesticidas sobre la salud del ser humano y otros organismos (Domratcheva, 2005).

Para aumentar la durabilidad de la madera se aplican preservadores, para unir piezas en la manufactura de artículos se aplican colas y adhesivos, para embellecerla y protegerla de la humedad se aplican barnices, lacas y pinturas, y en las construcciones con madera se aplican además de los anteriores retardantes del fuego, estos productos hacen que la madera cuando se retira del servicio quede como un residuo peligroso para la salud humana y el medio ambiente, éstos residuos deben manejarse adecuadamente. La aparición de sustancias peligrosas en la madera está íntimamente asociada a los tratamientos recibidos durante las diferentes etapas de transformación de la madera donde ésta es sometida a diferentes procesos con el objeto de protegerla frente a organismos xilófagos (insectos, hongos, xilófagos marinos) u otros agentes abióticos (fotodegradación, fuego) que afectan a su durabilidad. En este contexto, dependiendo de los compuestos aplicados a la madera, ciertas tipologías de residuos de madera podrían suponer un riesgo potencial como consecuencia de una posible migración de sustancias tóxicas a lo largo del tiempo desde esta madera hasta el medio ambiente. Algunas maderas tratadas pueden generar humos tóxicos si son incineradas, liberarán partículas nocivas en el proceso de trituración o contaminan el suelo cuando el residuo permanece en un vertedero no aislado convenientemente (Sociedad Pública de Gestión Ambiental de la Comunidad Económica Europea, 2005).

En países desarrollados se generan hasta 63,057.88 Tm/año de residuos de madera tratada y se tienen normas de manejo de estos productos. Sin embargo en México no se tiene una

estimación de estos residuos sólidos maderables ni de la composición química contaminante.

Por otra parte, la producción maderable en México en el año 2005 alcanzó un volumen total de 7,143,000.0 m<sup>3</sup> de madera en rollo de madera de varias especies entre las que se pueden citar: pino, encino, oyamel y otras maderas de clima templado y tropicales. El pino es la especie más comercializada de la cual se extrajeron 5,630,000.0 m<sup>3</sup> de madera en rollo. La madera de encino es la segunda especie más aprovechada y alcanzó un volumen de 708,000.0 m<sup>3</sup>. Maderas tropicales y otras maderas un total de 542,000 m<sup>3</sup> de madera rolliza (SEMARNAT, INEGI, 2006). La madera en rollo de pino en promedio tienen el 22 % de albura y el 78% de duramen y para la madera de encino el 63.7 % es albura y el 36.3 % es duramen. La madera de albura es susceptible de ataque de barrenadores de madera y en la gran mayoría de los aserraderos no cuentan con el proceso de preservación y de secado de madera en estufa para protegerla contra insectos xilófagos barrenadores de madera seca como lo es la especie de *Lyctus planicollis* LeConte y *Lyctus linearis* Goeze que deterioran maderas de latifoliadas con altos contenidos de almidón, más de 1.5 % (Vignote y Jiménez, 1995) encontrado en maderas de vasos grandes, como el (encino), *Quercus* spp (nogal) *Juglans regia* L., (fresno) *Fraxinus udhei*, (álamo) *Populus alba* y (eucalipto) *Eucalyptus* spp. El *Lyctus* es una especie que causa daños de gran importancia en muebles, pisos, duela y lambrín elaborados con maderas duras (Cibrian *et al.*, 1995).

Otro barrenador de madera de importancia económica son las termitas de madera seca *Incisitermes marginipennis* (Latreille) que deteriora maderas suaves como la de *Abies religiosa* (oyamel), *Cupressus lindley* (cedro blanco), *Fraxinus udhei* (fresno), *Pinus* spp (pino), *Populus alba* (álamo), *Salix* spp (sauce) y *Taxodium mucronatum* (ahuehete). Las termitas en general tienen una importancia económica y se han estigmatizado como plaga

sin embargo, Concello y Mylnes, (1999), consideran que solo el 20 % pueden ser plagas. Estos insectos afectan las estructuras de madera hechas por el hombre en las que causa serios daños. En países donde la madera es la base de la construcción de vivienda y otros edificios los daños causados por mas de 40 especies de termitas en esos países se calculan en dos billones de dólares anualmente por concepto de prevención, control y reparación de daños. En México cada día es mas notoria su importancia, se han encontrado daños en arbolados de los parques y jardines que por lo general son los focos de infestación para las casas aladeñas donde causan problemas en las partes estructurales, en muebles y diversos utensilios de madera (Cibrian *et al.*, 1995). En estudios realizados por Wiseman y Eggleton en 1994 reportaron que en México los daños por insectos xilofagos barrenadores de madera ascienden a 28.5 millones de dólares solamente para la zona metropolitana.

Para aumentar la vida útil de la madera es necesario impregnarla con preservadores de sales hidrosolubles de cobre cromo y arsénico, fluoruros, alquitrán y creosota y preservadores naturales extraídos de plantas y de otras maderas resistentes al ataque de insectos barrenadores.

En la actualidad el uso de preservadores y plaguicidas de síntesis química ha causado enfermedades en las personas que los fabrican y en los que los aplican. Es probable que algunos de los productos químicos que se emplean para conservar la madera causen más reacciones de dermatitis que las resinas oleosas que contiene la madera. Los preservadores que se utilizan para la protección de la madera todos ellos son causas conocidas de enfermedades cutáneas profesionales. Por otra parte la sustancia repelente de insectos mas utilizada es el dietil toluamida DEET es el principio activo más eficaz que se conoce. También hay compuestos naturales basados en las plantas que funcionan como la citronella y el eucalipto. El aceite de citronella es un extracto de los derivados terpenicos presentes en

diversas especies vegetales y esta compuesto de citronella, limoneno y otras sustancias similares. (Martínez, 2004).

En México, el 67.7 % de los ejidos utilizan como tecnología principal los plaguicidas, de esta manera se emplean anualmente un promedio de 60,000 toneladas de plaguicidas para producir el alimento que se consume. Este uso indiscriminado de plaguicidas de síntesis química ha traído graves consecuencias al medioambiente (INEGI, 2006) y como resultado ha causado que los insectos sean cada vez más resistentes a los plaguicidas. Los mecanismos de resistencia de los insectos a los plaguicidas tienen una base bioquímica. Las dos formas principales de resistencia son: a) La resistencia en el sitio blanco, la cual ocurre cuando el insecticida no se enlaza en el sitio de acción, en este caso el blanco son los canales de sodio a nivel axónico y b) Las enzimas detoxificantes las cuales ya sea por sus niveles elevados o modificación de (esterazas, oxidasas o glutatión-transferasas (GST)), previenen que el insecticida alcance su sitio de acción (Flores *et al.*, 2001). Un mecanismo adicional esta basado en la respuesta térmica al estrés (Patil y col.1996) pero aun no se ha determinado su importancia.

Por eso en los últimos años los cambios han sido notables en cuanto a los tipos de preservadores convencionales y se ha incrementado la búsqueda de nuevas sustancias menos dañinas al humano y a los ecosistemas en general. Algunas de estas sustancias son compuestos organometálicos. En su preparación se usa oleato, acetato, naftenato, quinolinolato de cobre y zinc (Hardwood, 1963 y Manual del Grupo Andino para Preservación de la Madera, 1988). Recientemente se ha reactivado con gran auge la búsqueda de preservantes para madera de origen orgánico, extractos de diferentes plantas o de árboles con propiedades biocidas menos agresivos para el humano y el medio ambiente.

Sin lugar a dudas los insecticidas vegetales constituyen una muy interesante alternativa de control de insectos además de que sólo se han evaluado muy pocas plantas de las 250.000 que existen en el planeta por lo que las perspectivas futuras son aun insospechadas. De hecho existen plantas como el neem (*Azadirachta indica* J.; Meliaceae), que han mostrado tener excelentes resultados encontrándose ya en el mercado formulaciones comerciales. Pero no se debe caer en triunfalismos y pensar que van a reemplazar a los insecticidas sintéticos sino que estos constituyen una alternativa dentro de un programa de Manejo Integrado de Plagas que debe ser complementada con todas las otras medidas de control que existen (Silva, 2002.)

### **HIPÓTESIS**

Las maderas secas de encino (*Quercus* spp) y pino (*Pinus* spp) son protegidas del daño causado por *Lyctus* spp e *Incisitermes marginipennis* con extractos vegetales acuosos.

### **OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto preservador de madera seca de los extractos vegetales acuosos contra *Lyctus* spp e *Incisitermes marginipennis*.

## OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Selección de un extracto acuoso con actividad insecticida de hojas y frutos de *Melia azedarach* L., del duramen de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq) Griseb. y de las hojas de frescas de *Nerium olenader* L. aplicados a la madera de albura de *Quercus* spp., expuesta al ataque de *Lyctus* spp.
2. Investigar la presencia de *Lyctus* spp en México.
3. Determinar si el extracto acuoso de madera del duramen de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. (parota, nombre común) un árbol endémico de México y América Central, en cuya madera de duramen se ha observado una resistencia natural a la biodegradación, es capaz de proteger la madera seca de *Pinus* spp y *Quercus* spp del deterioro que causan *Insicitermes marginipennis* y *Lyctus planicollis*.
4. Determinar el posible efecto del extracto acuoso vegetal con propiedad insecticida.
5. Identificar los principales componentes presentes en los extractos de hojas y frutos de *Melia azedarqach* L. del duramen de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. y de las hojas frescas de *Nerium oleander* L. con actividad biológica útiles para la preservación de la madera de *Quercus* spp contra *Lyctus* spp.

## ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

- 1.- Identificación de las especies de *Lyctus* spp presentes en Michoacán.
- 2.- Colecta de *Lyctus* y termitas *Incisitermes marginipennis* de madera plagada.
- 3.- Colecta de los materiales para la elaboración de los extractos acuosos; de *Enterolobium cyclocarpum*, duramen; de *Melia azedarach*, Hojas y frutos y de *Nerium oleander*, hojas y frutos.
4. Escrutinio de extractos con efecto positivo de control de insectos barrenadores de madera.
- 5.- Extractos con propiedades insecticidas.
- 6.- Análisis químico del extracto por Espectrometría de Absorción Atómica (AAS), Cromatografía de Gases- Masas (CG-MS)y Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

## BIBLIOGRAFÍA

Bello González, M. A., Labat, J. N. 1987. Los encinos (*Quercus* spp.) del Estado de Michoacán, México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias

Cibrián Tovar, D., Méndez J.T., Campos Bolaños, R., Yates III, H.O. y Flores Lara, J. 1995. Insectos Forestales de México/Forest Insects of Mexico. Universidad Autónoma Chapingo–Comisión Forestal de América del Norte, FAO. Publicación/Publication No. 6, 453 pp.

SARH. Centre d'Estudes Mexicaines *et* Centramericaines. México, D. F. 98 p

COMACO. 1995. Manual de Construcciones de estructuras ligeras de madera en la construcción. Comisión Forestal de América del Norte. Consejo Nacional de la Madera en la Construcción A. C. México D. F. 472 p.

Concello, E. y Milnes T.G. 1999. Isoptera. En: Llorente, J.B. E. González S., García, A, y Papayero, N. (eds). Biodiversidad, Taxonomía y Biografía de Artrópodos de México: Hacia una Síntesis de su Conocimiento. Vol. 2 (en prensa).

Chudnoff, M. 1984. Tropical timbers of the World. United States Department of Agriculture. Agriculture Handbook No. 607. Washington, D. C.

Domratcheva Lvova, L. 2005. Análisis de la toxicidad de compuestos organometálicos para su uso como preservantes de la madera. 1º Foro académico de la DES de Ingeniería y Arquitectura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia Michoacán. p 71-75

Encinas, O. 2004. Conservación de maderas- Tratado. Universidad de los Andes. Trujillo, Venezuela. [http: maderasulamerica.galeon.com/productos 154438.html](http://maderasulamerica.galeon.com/productos154438.html)



Flores, A. E., Budii, M.H. y Ponce, G. G. 2001. Resistencia a insecticidas en insectos vectores de enfermedades con el énfasis en mosquitos. *Revista Salud Pública y Nutrición* Vol. 2 No. 4.

Guridi Gómez, L. I y Madrigal Sánchez X. 2007. Características generales de algunas especies maderables de coníferas de importancia comercial. (Sometido a publicación). 25 p.

Harwood, J. H. 1963. *Industrial applications of the organometallic compounds* London. Chapman & Hall.

INEGI. 2006. Instituto Nacional de Estadística, Geografía, e Informática.

Koul, O., Shing, G., Shing, R., Shing, J., Daniewski W. M. y Berlozecki, S. 2004. Bioefficacy and mode-of-action of some limonoids of salannin of group from *Azadirachta indica* A. Juss and their role in a multicomponent system against lepidopteran larvae.

Maggy, M. 2004. Insecticidas naturales. Laboratorio de Química Fina y Productos Naturales. Agencia Cordoba Ciencia- Unidad CEPROCOR. 8 p.

Martínez, M. 1981. Los encinos de México. *Anales del Instituto de Biología, México*. Comisión Forestal Michoacán, Serie Técnica No. 8. México. 358 p.

Martínez López, R. 2004. <http://www.alergomurcia.com/pdf/alergiamosquitos...>[Consulta 23 de mayo de 2007].

Niembro Rocas, 1990. Árboles y arbustos de México. Naturales e Introducidos. Ed. Limusa. México D. F. 206 p.

Patil, N. S., Lole, K.S. y Deobagkar. 1996. Adaptive larval thermotolerance and induced crosstolerance to propoxur insecticides in mosquitoes *Anopheles stephensi* and *Aedes aegypti*. *Med. Vet. Entomol.* 10: 277-282.

Reyes Chilpa, R., Viveros Rodríguez, N., Gómez Garibay, F. y Alavez Solano, D. 1995. Antitermitic Activity of *Lonchocarpus castilloi* flavonoids and heartwood extracts. *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 21(4)

Reyes Chilpa, R., Pérez Morales V. y Del Angel, S. B. 1987. Influencia de los extractivos en la resistencia natural de seis maderas tropicales al hongo de pudrición morena *Lenzites trabea*. INIREB. Xalapa, Ver.

SEMARNAT, 2006. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

Scheffer, T. C. 1973. Microbiological degradation and the causal organisms. *In: Wood deterioration and its prevention by preservative treatments*. Vol. I. Degradation and protection of Wood. D. D. Nicholas (ed). Syracuse Wood Science Series 5. Syracuse Univ. Press. New York.

Silva Aguayo, G. 2002. Insecticidas Vegetales. Facultad de Agronomía Universidad de Concepción, Chile. gosilva@udec.cl. 11 p.

Sociedad Pública de Gestión Ambiental, 2005. Inventario y caracterización de residuos de madera tratada en la comunidad Autónoma del País Vasco. España. 37 p.

(Vignote P. S. y Jiménez Periz, F.G. 1995. Tecnología de la Madera. Ministerio de agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, España. 602 p.

Wissel, B. C. 2006. Preservación de maderas, solución ecológica VIII Congreso Nacional de Ciencias. Universidad Earth. Guásimo Limón, Costa Rica. 10 p.

**Anti-termite activity of an aqueous extract from the heartwood of *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq) Griseb.**

**Antitermiten Aktivität der Kernholzwasserextrakten von *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.**

SUMMARY

Hardwood aqueous extracts *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. exhibited toxic effects against *I. marginipennis* with more than 60% mortality to a concentration of 0.2626 mg·ml<sup>-1</sup> of phenolic equivalents. Feeding rate correlated positively with the mortality of termites. The midgut cellulolytic activity of the termites and fungal cellulase activity were not inhibited. These results suggest that hardwood aqueous extract from *E. cyclocarpum* containing slow acting toxins and secondary metabolites with a dissuasive effect on termites.

KEY WORDS: heartwood, *Incisitermes marginipennis*, cellulolytic activity, midgut, and toxic effect.

Zusammenfassung

Der Wasserextrakt des Kernholzes von *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. hat toxische Wirkung gegen *Incisitermes marginipennis* gezeigt. Bei einer Konzentration von 0.2626 mg·ml<sup>-1</sup> gleichwertigen Phenolen ist die Termitensterblichkeit mehr als 60.0% zu beobachten. Das Verhältnis zwischen Ernährung und Sterblichkeit der Termiten hat eine positive Wechselwirkung gezeigt. Die innerliche Cellulolytischeaktivität der Termiten und

die Cellulaseaktivität sind nicht gehemmt. Diese Ergebnisse schlugen vor, dass der Wasserextrakt des Kernholzes von *E. cyclocarpum* eine niedrige toxische Aktivität aufweist, er enthält aber Inhaltsstoffe, die eine zurücktreibende Wirkung gegen Termiten aufzeigen.

Schlüssel: dünndarm, *Incisitermes marginipennis*, Kernholz, toxische Wirkung, Cellulolytischeaktivität, Termiten.

## **1 Introduction**

One cosmopolitan boring insect of dry wood is *Incisitermes marginipennis*, which destroys dry wood of low density such as pine (*Pinus* spp.) or oyamel (*Abies* spp.) when they have not been treated with conventional preservatives, such as boron, chrome, copper and arsenic salts or phenolic derivatives and organophosphates (Murphy 1990). The preservatives produce environmental damage, e.g. they have forced a great selective pressure on insects and others organisms that have generated resistance to the pesticides. Research has been conducted for new, environmentally friendly alternatives to control the dry wood termites, the secondary metabolites of plants with natural resistance to plagues and pathogenic. They are a source in which potential insecticides with new mechanisms of biological action can be found capable of displacing the present ones in wood preservation. The understanding of the natural resistance to biodegradation that some heartwood possess and the secondary metabolites extracted from them, are beginning to be applied to wood of low resistance to biodegradation and in strategies for its rational utilization in the

management of plagues and pests. For example, it has been reported that extracts of the heartwood of *Thuja plicata* and *Chamaescypris nootkatensis* applied to softwood of the same arboreal species avoided degradation by termites and fungi (Taylor *et al.* 2006). *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. is a Central American native tree that grows in central Mexico, on the coasts of the Pacific Ocean and the Gulf of Mexico to the North of Brazil and Colombia (Aguilera 2001). In this region, it is known as “parota”, it is utilized for the obtaining aromatic rubber freed from the bark (latex) which is used for pulmonary treatment and bronchial affections (Zamora and Gonzalez 1999), also in the cabinetmaking, in the production of furniture as well as a species restorer of the environment and as fodder (Camacho 1981; Carranza Montañaño *et al.* 2003; Patiño and Villagomez 1976). It was observed that antique furniture, household articles and the housing construction industry of heartwood derivatives of *Enterolobium cyclocarpum* in use nowadays, present high durability, indicating that the wood possesses a natural resistance to the attack of dry wood boring insects and to degradation by fungi. It is believed that, in part, it is not due to structural secondary metabolites (Chudnoff 1984; Grace and Yamamoto 1994; Guridi 1980). Our objective was to study the potential anti-termite property of the aqueous extracts of *E. cyclocarpum* heartwood.

## **2 Material and methods**

One hundred grams of sawdust from *E. cyclocarpum* (Jacq) Griseb. logs from mature trees more than 15 years old and recently felled were used to obtain an aqueous extract. The extracts were elaborated in 500 ml of hot deionized water during 120 min to a temperature

of 45-50 °C. A reddish brown color extract was obtained, was filtered, concentrated with liofilization and stored at vacuum cooling to 0 °C for its use.

Biological material. Dry wood termites of the species *Incisitermes marginipennis* (Latreille) in the blocks of infested dry pine wood were cultivated in a container with the dimensions of 40 x 50 x 150 cm, they were maintained in the laboratory in darkness at 25 °C for a month for their acclimatization before the test of toxicity. In all the experiments termite nymphs were utilized.

Oral toxicity assay. Filter paper disks Whatman number 3 of 8.5 cm of diameter were previously impregnated with the aqueous extract and then dried to a constant weight. They were placed in a petri-dish and in each treatment, 25 nymph termites were placed on the paper and they were covered to eliminate the light. Every week, for eight weeks both the live and the dead termites were counted. Other toxic effects leading to death, such as those that suffered a reduction of the dimensions of the abdomen were not counted. To determine the percentage of feeding, each week the weight of the control paper filter and the impregnated paper were registered, the differences in weight was estimated by the feeding of the termites. The controls were termites incubated in paper filters without aqueous extract. It was verified that the termites that were fed with cellulose impregnated with the aqueous extract by visual inspection of the pigmentation of the abdomen of the workers and they were contrasted with the control termites.

Preparation of cellulolytic extract from termite. Termites were starved for 48 h, then, several groups of fifteen termites each were done and fed for 24 h with the following diets:

- 1) filter paper Watman no. 3 impregnated with (0.2626 mg·ml<sup>-1</sup>) hardwood extract aqueous

from *E. cyclocarpum* and, 2) a plain paper filter. 24 h later each termite was extracted by suctioning the midgut, pooling and macerating with liquid nitrogen on saline solution. Extracts obtained were used to measure the cellulolytic activity. It used cellulases obtained from a fungi *Colletotrichum lindemuthianum*, the casual agent of *Phaseolus* spp anthracnose, which was obtained by growing of fungus on cellulose and mineral medium. The extra cellular enzymes were precipitated with 40 %  $\text{NH}_4\text{SO}_4$ , then desalted by dialysis and concentrated in liophylizator and refrigerated for use. The enzymatic activity determinations of the  $\beta$ -glucosidase and endo cellulase were made by the method reported by Habu *et al.* (1997). The assay mixture contained 20 to 80  $\mu\text{g}$  protein (enzymatic extract), the substrates were *p*-nitrophenyl glycoside (PNPG) and carboximethyl cellulose (CMC) for the determination of the  $\beta$ -glycosidase and endo cellulase activities, respectively. The specific activity is reported as  $\mu\text{moles glucose releases min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  protein.

Reducing sugars assay reported by Miller (1959). It was determined by the method of dinitrosalicylic acid (DNS) and glucose which was used as standard and was reported as glucose equivalents.

Measurement of the phenolics equivalents. It was determined by the method reported by Swain and Hillis (1995), using cinnamic acid as the standard.

Statistical analysis. Five independent experiments were done using three independent replicates. Feeding, survival and rate were measured each time. The percentages of mortality were calculated according to the equation of Abbot (Abbot 1925). The percentage of feeding was calculated on the basis of the consumption of the paper in the

control test as 100% of feeding. All the cases reflect the differences of values among the treatments and the control according to one way ANOVA, the statistical analysis of correlation was done with the Statistic 6.0 software.

### **3 Results and discussion**

The concentration dependent toxic effect of aqueous extract from *E. cyclocarpum* on survival and feeding rates of *I. marginipennis* (termite) is summarized in table 1. Worker termites were susceptible to  $0.2626 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  of extract with survival rate of 38 % after five weeks, and it was clearly observed that termites were feeding on paper treated with aqueous plant extract in a dependent concentration. Worker termites were susceptible to the extract of the aqueous plant; it induced a termite mortality rate of 50 % after five weeks following oral feeding with  $0.2626 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  of phenolic equivalents. A strong positive correlation was observed between termite feeding and mortality rates. The range of termite feeding values was small and termite mortality matching the sample was positive by linear regression analysis. The slope ( $r = 0.967$ , d.f. = 1,  $F = 48$ , s.e = 2.2) of the regression line represents the efficiency of termites for eating filter paper treated with aqueous extract. *E. cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. heartwood aqueous extract exhibited a toxic effect against *Incisitermes marginipennis* (Latreille) dependent of the time, feed and the concentration. Presenting a behavior of survival in starvation similar to the subterranean termite *Coptotermes formosanus* and different from the termites of the genre *Reticulitermes*. The toxic effect of the aqueous extract from *E. cyclocarpum* surpasses the high mortality (50%) of the reproductive primaries of the subterranean termite *C. formosanus* caused by the flavonoids, quercetin and apigenin after 30 days of exposure (Boué and Raina 2003).



Nevertheless, the toxic effect was less effective than that caused by tannins and modified tannins against *C. formosanus* (Yamaguchi *et al.* 2002). Also it was observed that in the termites being fed with the paper impregnated with the extract, the size of the abdomen diminished visibly and finally leads to their death. The population of termites with these symptoms was roughly 20% after the four weeks.

It was observed that concentrations over  $0.1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  of phenolic equivalents of the vegetable aqueous extract caused a decrease in the consumption of cellulose by slow acting toxins with a lethal toxic effect reducing the number of termites, with no increase in the consumption of the paper filter to concentrations over  $0.1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  was detected. It was determined that the death of the termites correlated with the consumption of the growing concentrations of the aqueous extract. An example of slow acting toxins is amidinohydroazone as a component of several commercial formulation insecticides.

The aqueous extract of *E. cyclocarpum* presented a lethal toxic effect against *I. marginipennis* for a long time. The understanding of toxicity of aqueous extract on termites is complex because a lot of secondary metabolites in aqueous hardwood extract, but, it is possible that some of these affected the relation symbiotic between the microbiota gut and the termite. When enough aqueous extract is ingested to kill the termite, it is thought that cellulase inhibitors play a role of inhibiting one or more of the cellulases in the midgut of the termite. A change on cellulolytic activity in termite midgut was taken as an indicator to know the kind of toxic effect of hardwood aqueous extract on termites. The  $\beta$ -glycosidase y endocellulase enzymes were taken as representatives of intestinal cellulolytic activity of termites. When they were feeding with cellulose impregnated with hardwood aqueous

extract it did not change the intestinal cellulolytic activity that was observed with respect to termites feeding with only cellulose (Table 2). As well, *in vitro* assay the cellulases partially purified from fungus *C. lindemuthianum* were not affected by any chemical component of hardwood aqueous extract from *E. cyclocarpum*. This result suggests that hardwood aqueous extract does not affect the cellulolytic activity of termite midgut or fungus. However, we must consider that a preservative of dry wood to be acceptable should not cause a great number of deaths in target organisms, but must have a dissuasive effect.

#### **4 Conclusion**

These results suggest that hardwood aqueous extract from *E. cyclocarpum* containing slow acting toxins. The midgut cellolytic activity (cellulases secreted by protozoa, fungi, bacteria and probably by the insect) of termite was not affected by any component of hardwood aqueous extract nor inhibited by the *in vitro* activity of fungal cellulases and it is possible that some secondary metabolite on aqueous extract have a dissuasive effect on termites.

#### **5 Acknowledgments.**

Financial support was provided by UMSNH and Fondos Mixtos CONACYT- Government of the State of Michoacan to CIC-2.1-MMP-2006 and 2005-C01-009 projects, respectively. D. R. G. was funded by to CONACYT and UMSNH scholarships, respectively.

## 6 References

- Abbot WS. (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J Econ Entomol* 18:265-267.
- Aguilera RM (2001) *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. Paquetes Tecnológicos. SIRE-CONABIO-PRONARE. SEMARNAP. México, D. F.
- Boué SM, Raina, AK. (2003) Effects of plant flavonoids on fecundity, survival, and feeding of the formasan subterranean termite. *J Chem Ecol* 29:2575-2582.
- Camacho MP. (1981) Ensayos de adaptabilidad y rendimiento de especies forestales en Costa Rica. Cartago, Costa Rica: Instituto Tecnológico de Costa Rica y Ministerio de Agricultura y Ganadería. p. 287.
- Carranza Montaña MA, Sánchez Vázquez LR, Pineda López MR, Cuevas Guzmán R, (2003) Calidad y potencial forrajero de especies del bosque tropical caducifolio de la Sierra de Manatlan, Mexico. *Agrociencia* 37:203-210.
- Grace JK, Yamamoto RT. (1994) Natural resistanse of Alaska-cedar, redwood, and teak to formasan subterranean termites. *Forest Prod J* 44:41-45.
- Chudnoff M. (1984) Tropical timbers of the world. *Agri. Handb.* 607. Washington, D.C.:U.S. Department of Agriculture. p. 466.
- Guridi GLI (1980) La madera en las artesanías del Estado de Michoacán. *Boletín Divulgativo* 50. Distrito Federal, México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales.
- Habu N, Igarashi K, Samejima M, Pattersson B, Ericsson LKL (1997) Enhanced production of cellobiose dehydrogenase in cultured of *Phanerochaete chrysosporium* supplemented with bovine calf serum. *Biotechnol Appl Biochem* 20:97-102.

- Miller GL (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem* 31:426-429.
- Murphy RI (1990) Historical perspective in Europe. Proc. First International Conference on Wood Protection with Diffusible Preservatives. Ed. Margaret Hamel, 28-30 Nov., Nashville Tennessee. pp. 9-13.
- Patiño VF, Villagomez AY (1976) Los análisis de semillas y su utilización en la propagación de especies forestales. Boletín 40. Distrito Federal, México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. p. 26.
- Swain T, Hillis WE (1995). The phenolic constituents of *Prunus domestica* I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J Sci Food Agric* 10:6368-6376.
- Taylor AM, Gartner BL, Morrell JJ, Tsunoda K (2006) Effect of heartwood extractives fraction of *Thuja plicata* and *Chamaecyparis nootkatensis* on wood degradation by termites or fungi. *J Wood Sci* 52:147-153.
- Yamaguchi H, Yoshino H, Kido A (2002) Termite resistance and wood-penetrability of chemically modified tannin and tannin-copper complexes as wood preservatives. *J Wood Sci* 48:331-337.
- Zamora N, González J, Poveda L (1999) Árboles y arbustos del bosque seco de Costa Rica Nacional de Biodiversidad, Costa Rica. p. 4.

Table 1. Survival and Feeding rates of *Incisitermes marginipennis* exposed to aqueous extract of *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq) Griseb. after a five weeks of exposure.

Tabelle 1: Überleben- und Ernährungsproportionen von *I. marginipennis* nach Fünf Wochen Exposition auf Wasserextrakt von *E. cyclocarpum*

Hardwood extract (mg phe eq·ml <sup>-1</sup> )	Survival rate (%)	Feeding rate (%)
0.0000	97	100
0.0026	96	92
0.0263	77	63
0.1313	44	29
0.2626	38	26

Table 2. Effect of heartwood aqueous extract of *Enterolobium cyclocarpum* on cellulolytic activity present in midgut of *Incisitermes marginipennis*.

Tabelle 2: Wasserextrakteffekt des Kernholzes von *E. cyclocarpum* auf die Cellulolytischeaktivität im Darm von *I. marginipennis*

Enzymatic source	$\beta$ -Glycosidase	Endocellulase
Midgut of termite fed with cellulose	0.093 $\pm$ 0.002	2.23 $\pm$ 0.07
Midgut of termite fed with cellulose impregnate with 0.2626 mg·ml <sup>-1</sup> <i>E. cyclocarpum</i> aqueous extract	0.102 $\pm$ 0.001	2.98 $\pm$ 0.011
Cellulase from <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (10 U)	0.152 $\pm$ 0.01	7.02 $\pm$ 0.75
Cellulase from <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (10 U) + (0.2626 mg·ml <sup>-1</sup> ) <i>E. cyclocarpum</i> aqueous extract	0.141 $\pm$ 0.02	6.06 $\pm$ 0.45

## RESULTADOS ADICIONALES

### 1. Presencia de *Lyctus planicollis* y *L. linearis* en México.

#### Resumen

*Lyctus* spp (lictus o polilla, nombres comunes) son insectos barrenadores que destruyen madera seca con un gran contenido de almidón, tal como la madera de encino. La importancia de esta plaga es debida a la gran cantidad de artículos de madera de encino comercializados en el país derivados de procesar aproximadamente 918,604 m<sup>3</sup>/rollo de madera por año, de la cual se deshecha el 50 % por el aserrío y el otro 50 % se transforma en encerados domésticos e industriales los que son susceptibles al deterioro causado por insectos barrenadores en caso de que la madera no se preservada.

Se consideró como un indicador de magnitud de daño a la presencia del barrenador en los sitios de gran movilidad de madera, específicamente de madera de encino seca. Para detectar la presencia de *Lyctus* spp se encuestaron industrias procesadoras de madera de encino, en la ciudad capital de los Estados de Durango y Michoacán, (el primer y el tercer lugar en la extracción de esta madera, respectivamente) que son los lugares donde se concentra y se distribuye la madera de encino nacional y de importación. En ambas entidades federativas se detectó la presencia de *Lyctus* infestando madera seca de encino almacenada en las fábricas de procesamiento de esta madera, que representó un 0.03 (96 m<sup>3</sup>) y 1.32 % (205 m<sup>3</sup>) de los volúmenes de madera manejados en el 2006 en Durango y Michoacán, respectivamente. Una cantidad relativamente grande de madera infestada por *Lyctus*, considerando la rapidez con que se procesa y comercializa esta madera.

Por los datos morfológicos de los insectos recolectados tanto en Durango como en Michoacán, estos correspondieron a las claves taxonómicas descritas para *Lyctus planicollis*

LeConte. En Michoacán se encontró infestando madera de encino seca una segunda especie de lictido, la cual se identificó como *L. linearis* Goeze un insecto barrenador del que se ha reportado que preferentemente degrada madera seca de mezquite y que por primera vez se reporta la presencia de *L. linearis* en Michoacán.

Por datos reportados referentes a la presencia de *Lyctus* y los resultados del presente estudio sabemos que *L. planicollis* se encuentra en los Estados de Durango, México, Puebla, Tlaxcala y Michoacán., por lo que inferimos que este insecto se encuentra ampliamente distribuido en la república mexicana.

Se sugiere que la madera de encino y aquellas con gran contenido de almidón deben de ser tratadas con un preservador, preferentemente de origen vegetal o bien de una formulación química similar a los extractos vegetales obtenidos de maderas resistentes.

**Palabras claves:** *Lyctus linearis*, *L. planicollis*, encino, lictidos,

### **Introducción**

En la mitad de los años 90s se detectó la presencia de *Lyctus planicollis* (LeConte) en el Distrito Federal, México, desde entonces han surgido reportes esporádicos de la presencia del insecto barrenador de madera seca (Cibrián *et al.*, 1995). *Lyctus* posee un ciclo de vida complejo y en su forma larvaria preferentemente deteriora madera seca de encino (*Quercus* spp) aunque también infesta otras maderas con alto contenido de almidón (1.5%) y un contenido de humedad de 10 al 28 % como: *Alnus firmifolia* (aile), *Carya* spp (nogal americano ó pacana), *Eucalyptus* spp (eucalipto), *Prosopis* spp (mezquite), *Ficus glaucences* (higuera), *Fraxinus* spp (fresno) y *Juglans* spp (nogal) (Echenique-Manrique y Robles, 1993).



Cuando el *Lyctus* spp se convierte en adulto perfora la capa superficial de la madera que dejó la larva antes de transformarse en pupa, produce orificios circulares de diámetro entre 0.5 a 1.8 mm con porciones de polvo alrededor (Vignote y Jiménez, 1996). El daño causado por este xilófago cosmopolita es una descomposición completa de la madera, en algunos casos dejan intacta la capa superficial sobretodo cuando no producen orificios de salida causados por los insectos adultos. Cuando los insectos de la segunda generación aparecen rápidamente la madera queda totalmente dañada y convertida a polvo.

*Lyctus* es un género económicamente importante por el daño potencial que puede causar en madera seca con un gran contenido de almidón. En el pasado reciente en México se extrajeron 918,604 m<sup>3</sup> de madera en rollo de encino (*Quercus* spp), susceptible al deterioro por insectos barrenadores como *Lyctus planicollis* (LeConte) y *L. linearis*. El encino ocupa el segundo lugar en la producción de artículos domésticos después de la madera de pino (*Pinus* spp) (INEGI-CONAFOR, 2005).

*Lyctus* spp es un insecto barrenador de madera seca que en México no ha recibido la atención adecuada para su control por lo que es escaso el conocimiento de su biología, distribución, especies del género *Lyctus* presentes en el territorio mexicano y las especies de madera que infesta. Por lo que el propósito de este trabajo fue investigar la presencia y distribución de *Lyctus* spp. en México.

### **Metodología**

Área de estudio. Para detectar la presencia de *Lyctus* spp se utilizaron reportes publicados referentes a la detección del insecto, además se hizo una búsqueda en los estados de Durango y Michoacán, por ser de las principales entidades federativas productoras de madera de encino

y por concentrar la madera de encino extraída del bosque para su procesamiento en la capital del Estado.

El Estado de Durango cuenta con la reserva de bosque mas grande del país con cinco millones de hectáreas, mientras que Michoacán cuenta con una reserva de 1,540,930 ha de bosques y 1,062,263 ha de selva (Anuario Estadístico 2002) entre ambas entidades manejaron un volumen de madera de encino aserrada de 447,457 m<sup>3</sup> cuyo destino fue la producción de diferentes enceres domésticos, como lambrín, duela, marcos, muebles etc.

Trabajo de campo. Consistió en la obtención de información del industrial de la madera acerca del volumen de madera de encino procesada, de la detección y conocimiento del insecto barrenador de madera y de la diferenciación con otros insectos barrenadores de madera. De las diez industrias seleccionadas en el estado de Durango en tres de ellas se obtuvo una respuesta a la encuesta, mientras que en el Estado de Michoacán se seleccionaron diez industrias madereras y en nueve de ellas se obtuvo información.

Los datos de la encuesta fueron procesados de manera simple y no se aplicó ninguna aproximación matemática para reducir el margen de error debido a la diferencia entre la realidad y la información obtenida ya que al aplicar la encuesta encontramos un marcado hermetismo en el sector industrial maderero para informar a cerca de la presencia de las plagas de la madera en la región. Sin embargo los resultados de la encuesta dejaron en claro la presencia de *Lyctus* spp. en estos estados de la república.

Muestreo del insecto. Se buscó la presencia de *Lyctus* spp en los enceres de madera de encino utilizados en la población, tales como; puertas, muebles, pisos, estructuras y otros enceres de edificios públicos de fácil acceso tal como templos católicos y edificios gubernamentales. En ambas entidades se obtuvieron muestras de madera de encino infestada con *Lyctus* spp que

fueron donados por industriales y servidores públicos. La madera plagada se conservó en oscuridad y a temperatura constante hasta la sustracción del insecto para la identificación taxonómica, después algunos especímenes fueron conservados en etanol al 70%.

Identificación taxonómica de *Lyctus* spp. La determinación taxonómica de los insectos se hizo empleando las claves morfológicas de los siguientes autores Anett (2000), Fisher (1950), Gerber (1956) y Jackman (2001). El material estudiado se encuentra depositado en la colección Entomológica del Laboratorio de Análisis de Referencia en Sanidad Forestal, Dirección de Salud Forestal y Conservación de Recursos Genéticos, México, D. F. y en la Colección Entomológica Forestal de la Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán. México.

## **Resultados**

Por el gran volumen de madera de encino que en México se consume, el potencial biodeterioro causado por *Lyctus* spp representa una pérdida económica importante y un serio problema fitosanitario. Un indicador de la gran demanda y consumo de madera seca en México es la producción nacional de madera aserrada en el bienio 2004 - 2005 (Cuadro 1). Por ejemplo se muestra que los estados de Durango, Chihuahua y Michoacán son los tres principales productores de madera de encino con un volumen de 446,140 m<sup>3</sup>/rollo. Madera que se utilizó para la fabricación de encerados domésticos y de las construcciones de madera que en caso de no haber recibido un tratamiento contra el biodeterioro y en un tiempo relativamente corto perderán su utilidad doméstica. La disminución de la resistencia y durabilidad de estos artículos de madera de encino es causada por hongos y principalmente insectos barrenadores xilófagos de madera seca como el *Lyctus* spp que utiliza el almidón como fuente de su alimentación.

**Importancia del *Lyctus* spp en Durango y Michoacán.** En Durango se obtuvo información solamente de tres empresas y en siete de ellas se observó un fuerte hermetismo para hablar de las plagas de la madera seca. Mientras que de las diez empresas encuestadas en Michoacán, en nueve de ellas se obtuvo información. Los resultados de la encuesta (Cuadro 2) mostraron el volumen de madera seca de encino que se procesaron en Durango (380,402.0 m<sup>3</sup>) y Michoacán (15,566 m<sup>3</sup>) y las pérdidas materiales causadas por el biodeterioro causado por *Lyctus* spp fueron de 96 m<sup>3</sup> y 205 m<sup>3</sup>, que representaron una pérdida del 0.03 y 1.32 % del volumen de madera seca de encino procesado en las fábricas tanto en Durango como en Michoacán.

**Especies de *Lyctus* spp infestando madera seca de encino detectadas en este estudio.** Los insectos recolectados se obtuvieron de madera seca de encino e infestada cuyo origen fue el estado de Durango. Las características morfológicas del insecto fueron: Adultos de color oscuro a casi negro; de 4 a 6 mm de longitud y aplanados dorsoventralmente; antenas con los dos últimos segmentos engrosados en forma de clava y pronoto con puntuaciones en el disco y líneas longitudinales de setas finas y largas, marcadas de hileras dobles de puntuaciones alargadas. Las hembras presentaron un ovipositor largo. Las larvas desarrolladas son de color blanco amarillento y miden de 3 a 5 mm de longitud, por lo general son en forma de “C”; cabeza embebida en el protorax, el último espiráculo abdominal mucho mayor que los otros (Figura 1) De acuerdo a las claves morfológicas de Anett (2000), Fisher (1950), Gerber (1956) y Jackman (2001), se determinó que se trataba de *Lyctus planicollis* LeConte.

En el Estado de Michoacán se colectaron los insectos en madera seca infestada. Se detectaron dos poblaciones de insectos barrenadores de madera aparentemente parecidas entre si. El análisis detallado de la morfología de los insectos se encontraron diferencias morfológicas de

especie, una que corresponde a la descripción general de los lyctidos, se obtuvieron los siguientes datos morfológicos: El *Lyctus* negro es *Lyctus planicollis* LeConte, no se pudieron diferenciar los sexos por el tamaño, ya que se observaron hembras grandes y pequeñas. La característica que se consideró para diferenciarlos fue la forma del último segmento abdominal, ya que en los machos es redondo y en las hembras en la parte media es triangular, presenta a los lados dos mechones de setas. Las hembras tienen el ovipositor extendido por lo que es fácil observar la característica del último segmento abdominal.

La segunda especie de *Lyctus* presentó lóbulos frontales amplios y muy elevados. Las antenas son más largas que el pronoto y los dos artejos antenales basales alargados. Pronoto cuadrangular, con los ángulos anteriores redondeados y los posteriores aserrados. Los márgenes laterales convergen posteriormente. El disco es rugoso con una fovea media profunda circular y bordeada de pilosidades largas y gruesas. Los élitros son casi tres veces más largos que anchos y estrías longitudinales con una sola hilera de pilosidades finas separadas por una hilera de puntuaciones ovoides grandes, excepto entre el primer par de estrías (contando desde la línea media), en donde las puntuaciones varían entre una y dos series. Los élitros son de color rojo herrumbre, con las puntuaciones negras y las patas café claro. Los sexos se pueden diferenciar debido a que la hembra tiene el quinto esternito más angosto y termina en punta, mientras que en el macho es más ancho y totalmente redondeado. La longitud de los adultos varía entre 2.5 a 5.0 mm (Hickins, 1963). Se determinó que se trata de *Lyctus linearis* Goeze un xilófago de mezquite y que en el desarrollo del presente trabajo se encontró en madera de encino plagada.

**Presencia de *Lyctus* spp en México.** En este estudio se detectó la presencia del xilófago barrenador de madera seca de encino *Lyctus planicollis* LeConte en los estados de Durango y

Michoacán (Ver la Fig. 2). Sin embargo se confirmó la presencia de *L. planicollis* en el D.F. y recientemente se reportó su presencia en los estados de Jalisco, México y Tlaxcala (Ojeda-Aguilera *et al.*, 2006). En este trabajo también se detectó la presencia de *Lyctus linearis* en el estado de Michoacán, una especie que preferentemente destruye madera de albura seca de mezquite.

### **Discusión**

Los insectos barrenadores de madera seca y húmeda que deterioran madera aserrada, madera almacenada y muebles elaborados con maderas duras o blandas, pertenecen a cinco órdenes taxonómicas: Isóptera, Coleóptera, Lepidóptera, Díptera e Hymenóptera, de ellos, solamente el orden Isóptera con las especies de *Incisitermes marginipennis* (Latreille), *Incisitermes minor* (Hagen), *Cryptotermes brevis* (Walker), *Heterotermes aureus aureus* (Snyder), *Reticulitermes flavipes* (kollar) y *Reticulitermes hesperus* Banks y el orden Coleóptera con las especies de *Lyctus* sp, *Xilobiops basilaris* (Say), *Calimaderus oblongus* (Gorham) y *Hylocurus microcormis* Word, deterioran madera seca para construir su hogar y a la vez obtener su alimento durante su ciclo de vida (Cibrián *et al.*, 1995).

En México la producción de madera en rollo en el pasado alcanzó un volumen total de 7.5 millones de metros cúbicos de madera en rollo distribuida en cinco entidades federativas siendo el Estado de Durango el primer productor de madera de encino y pino, Chihuahua el segundo y Michoacán el tercero. Las especies maderables de mayor aprovechamiento industrial orden de importancia son; pino, oyamel y encino, le siguen otras confieras y otras latifoliadas así como especies maderables preciosas de clima tropical.

El estado de Durango aporta una producción de 304,436.0 m<sup>3</sup> en rollo de madera de encino y Michoacán 143,021 m<sup>3</sup> rollo entre los dos suman una producción de 447,457 m<sup>3</sup> esta madera

al ser aserrada aporta un volumen de 223,728.5 m<sup>3</sup> de madera (tablas con porcentajes de albura de y duramen). La madera en rollo de encino tiene en promedio del 63 % de madera de albura y 37 % de duramen, así al aplicar este porcentaje al volumen de madera extraído de los bosques de las dos entidades federativas se tiene una cantidad de madera de albura susceptible de ataque de insectos de 140,949 m<sup>3</sup>, si la madera no es protegida con algún preservante.

De las doce industrias que respondieron a la encuesta y que procesan el encino, en diez conocen los daños que provoca en la madera el *Lyctus* o polilla. Los productos que las industrias producen son los siguientes: marcos para fotografías, duela, lambrin, piezas torneadas, zoclo, parquet y cabos para herramientas.

El volumen que procesa la industria número tres de la región de Durango es el mas alto y no reporta pérdidas debido a la rapidez con que trabaja la madera para la obtención de sus productos (marcos para fotografía), esta industria procesa en su mayoría encino americano y canadiense, el cual llega al país con tratamiento de secado en estufa y en algunos casos con preservador, razón por la cual no reporta pérdidas por daños de *Lyctus* spp y en las industrias número uno y dos procesan solamente encino nacional. Entre las tres industrias procesan un volumen de 380,402 m<sup>3</sup> de madera aserrada y solamente reportan 96 m<sup>3</sup> de madera infestada la cual representa solamente 0.03 % de madera plagada de *Lyctus*. Las nueve industrias de Michoacán reportaron una producción de 15,566 m<sup>3</sup> de madera aserrada y 205 m<sup>3</sup> de madera infestada por *Lyctus*, valor que representa el 1.32 % de madera plagada por *Lyctus* que junto con los hongos xilófagos. Un porcentaje de madera de encino seca grande al considerar que se encuentra en rápido proceso industrial y que evidentemente requiere de un tratamiento preservador preventivo. Mientras que en edificios públicos que contienen objetos de madera de encino se observó un evidente deterioro causado por varias plagas entre ellos por insectos

barrenadores del género *Lyctus* en los que se requiere en casos extremos reemplazar el objeto dañado por uno nuevo y aplicar un tratamiento preservador correctivo a los objetos rescatables. Estimamos que en las muestras recolectadas de madera de encino seca infestada, el 95 % fue causado por *L. planicollis*.

Las especies de lyctidos que se detectaron en el material plagado que se colectó en cada una de las industrias y edificios públicos, por criterios morfológicos fueron identificadas como *L. planicollis* LeConte, un líctido americano endémico de Canadá y Estados Unidos de América, de color negro y el lyctido endémico europeo *L. linearis* Goeze de color café rojizo e introducido al continente americano (Fig. 3A y B). Sin embargo encontramos cierta dificultad en la caracterización morfológica para ubicar taxonómicamente a *L. linearis*, por lo que será necesario hacer una clasificación taxonómica con marcadores moleculares o bien por la variación filogenética del contenido de Azufre, Carbono, Fósforo y Nitrógeno (Wood *et al.*, 2004).

En Michoacán y Durango se detectó y confirmó la presencia de *Lyctus* spp y por el volumen de madera de encino seca que se trabaja se calcula que las pérdidas económicas pueden alcanzar hasta 4.5 millones de pesos por ataque de *L. planicollis* y *L. linearis* en madera de *Quercus* spp. *Lyctus* spp. al estar presente en estos dos Estados del país y debido al comercio existente de madera aserrada con otros Estados de la república, se sugiere que también se encuentra en Sinaloa, Nayarit, Zacatecas, Jalisco, Colima, Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro, Guerrero, Oaxaca y Chiapas.

Las especies presentes en México que infestan madera de clima templado y tropicales son: *L. caribeanus* Lesne y *L. brunneus* (Stephens) (Cibrian *et al.*, 1995), aunque nosotros



detectamos la presencia de *L. linearis* y *L. planicollis* y el proceso de identificación molecular de estos insectos es un tema de investigación actual en nuestro laboratorio.

Se conocen otras especies de *Lyctus* que habitan en otros lugares del mundo: *L. africanus* Lesne, *L. cavicollis* LeConte, *L. chilensis*, nueva especie, *L. cineris* Blanchard, *L. linearis* (Goeze), *L. longicornis* Reitter, *L. opaculus* LeConte, *L. parvulus* Casey, *L. planicollis* LeConte, *L. praeustum* Erichson, *L. simplex* Reitter, *L. tomentosus* Reitter, *L. villosus* Lesne, *L. politos* Graus, *L. spinifrons* Stebb, *L. parasiticus* Steph., *L. colydioides* Dej., *L. glycyrrhizae* Chev., *L. disputans* Wlk., *L. rugulosus* Montr., *L. jatrophae* Woll, *L. costatus* Black. y *L. carolinae* Csy (Halperin, 1977).

Para utilizar la madera en muebles u otros artículos en primer lugar es necesario que la madera que va a ser procesada no presente evidencia de ataques de *Lyctus*, la madera que tenga pocos daños puede ser desinfectada mediante la aplicación de fumigante o calor. Por otro lado el secado de la madera en particular de encino y fresno mediante estufado a bajas temperaturas (40 °C) reduce el contenido de almidón y también el riesgo de ataque por *Lyctus*. La esterilización de maderas ligeramente afectadas por *Lyctus* puede llevarse a cabo mediante la exposición de la madera a una temperatura de 54 °C en una atmósfera saturada (100% de humedad relativa). El tiempo de exposición de las maderas depende del grosor de las piezas afectadas. Es necesario mencionar que estos tratamientos son solamente para eliminar ataques existentes en la madera.

En la actualidad existen en el mercado algunos tipos de preservadores que pueden ser aplicados a la madera para su preservación y controlar de esta manera el ataque de insectos xilófagos, los mas utilizados para madera son las sales hidrosolubles ACC (ácido-cromo-cobre), CCA (cobre-cromo-arsénico), ACA (amoníaco-cobre-arsénico), CZC (cloruro-zinc-

cromo), FCAP (Fluor-cromo-arsénico-fenol) y para madera que es procesada para elaboración de mueble y otros artículos de importancia comercial se utilizan compuestos de boro debido a que no cambia la coloración de la madera (COMACO, 1994).

Estos compuestos controlan el ataque de hongos, termitas, escarabajos y taladradores marinos, pero también tienen un riesgo a los seres humanos que va desde ligeramente tóxico hasta muy tóxico. Los productos que las industrias encuestadas reportaron como productos para la preservación usados en la preservación de madera son: pentaclorofenol, fósforo de aluminio, sales de boro, cromo cobre y arsénico y vida madera (un preservador de madera seca a base de pentaclorfenol).

Estos resultados sugieren revisar varios conceptos amplios, entre ellos, uno es el referente a las normas comerciales y fitosanitarias que regulan la importación y exportación de madera y evidentemente relaciona directamente el área encargada de la ejecución de las normas. Otro es, el estudio biológico del insecto barrenador y un tercero es el concepto que trata de la sustitución de los preservadores actuales por otros menos tóxicos a los seres vivos y medio ambiente, menos persistentes en el ambiente y menos perjudiciales de la madera seca de encino.

En las últimas décadas la investigación sobre bioinsecticidas, ha permitido descubrir y/o redescubrir numerosos productos cuyas propiedades fitoterapéuticas eran conocidas desde antaño, pero que nunca habían sido documentadas con métodos científicos, como el caso del Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) y del árbol conocido en la región como “paraíso” (*Melia azedarach* L.) especies pertenecientes a la familia de las Meliaceas originarios de Asia del Sur, en los que se ha descrito que poseen numerosos principios activos siendo el principal componente la azadiractina, de su nueve isómeros, los tipos A y B son los más abundantes

(Ramos, 2001). Metabolitos extraídos de maderas con una gran resistencia natural al deterioro por hongos e insectos barrenadores, tal como el duramen de *Enterolobium cyclocarpum* son candidatos para ensayarlos en el control de *Lyctus* spp.

### **Conclusión**

Por criterios morfológicos se detectaron las especies de *Lyctus planicollis* y *L. linearis* plagando la madera de encino. Se infiere que *Lyctus* spp. está presente en todos los estados de la república que consumen madera de encino de origen michoacano o duranguense.

### **Agradecimientos**

Este trabajo fue financiado por los Fondos Mixtos del CONAYT y del Gobierno del Estado de Michoacán de Ocampo (MICHOACÁN-2005-C01-009) y por la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH-CIC2.1MMP-2004).

### **Literatura citada**

Anuario 2006. Comisión Nacional Forestal.

Anuario 2002. Estadístico de Producción Forestal y Archivo de la Gerencia Regional IV Balsas de la CONAFOR, México.

Arnett, R.H. Jr. 2000. American insects A handbook of the insects of America North of Mexico. 2<sup>nd</sup> Ed. CRC press LLc. USA 1003 p.

Cibrián, T.D., J.D. Méndez M., R. Campos B., H.O. Yates III y J. Flores Lara 1995. Insectos Forestales de México/Forest Insects of Mexico Universidad Autónoma Chapingo y Comisión Forestal de América del Norte. Publicación No. 6 Chapingo Texcoco, México. 453 pp.

- COMACO. 1994. Manual de construcción de estructuras ligeras. Comisión Forestal de América del Norte. Consejo Nacional de la Madera en la Construcción A. C. México D. F. 472 pp.
- Echenique-Manrique, R., Robles Fernández, F. 1993. Ciencia y Tecnología de la Madera. Textos Universitarios. Universidad Veracruzana. Xalapa, Ver., México, 137 pp.
- INEGI-CONAFOR, 2005
- Fisher, W.S. 1950. a revision of the North American species of beetles belonging to the family Bostrichidae. Unites States Dept. Agric. Misc. Publ. 698, 157 p.
- Gerber, E.J. 1956. A revision of the New World species of powder-post beetles belonging to the family Lyctidae. USDA Technical Bulletin 1157. 70 p.
- Halperin, J. 1977. The powder-post beetle *Lyctus brunneus* Steph. in Israel. La-Yaaran 27: 36-45 (Hebr.); 46 (Engl. summary).
- Hickins, N.E. 1963. The Insect factor in wood decay. Hutchinson & Co.(Publishers) LTD, London. pp.137-138.
- Jackman, J. 2001. Wood-boring beetle identification keys. <http://entowww.tamu.edu/Extension/Insectans/identification/woodboringbeetles/>
- Ojeda-Aguilera, A. 1996. Investigadora del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
- Ramos Sanchez, R. 2001. Aceite de Neem un insecticida ecológico para la agricultura. Sitio y formato Web ZOE tecno-campo. Almeria, España. 10 pp.
- Vignote Peña, S., Jimenez Peris, F.J. 1996. Tecnología de la madera. Ministerio de Agricultura, Pesca y alimentación. Madrid, España. 602 pp.

Woods, H.A., Fagan, W.F., Elser, J.J., Harrison, J.F. 2004. Allometric and phylogenetic variation in insect phosphorus content. *Functional Ecology*, 18:103-109.

Cuadro 1. Producción de madera en los estados de Chihuahua, Durango, Michoacán y nacional en el año 2005.

ESPECIE	CHIHUAHUA m <sup>3</sup> R	DURANGO m <sup>3</sup> R	MICHOACAN m <sup>3</sup> R	NACIONAL m <sup>3</sup> ·R
PINO	1,480,112	1,827,151	940,706	<b>5,630,000</b>
OYAMEL	0	0	89,360	<b>237,000</b>
ENCINO	52,756	271,949	121,435	<b>708,000</b>
MADERAS TROPICALES	0	0	30,181	<b>497,000</b>
OTRAS MADERAS	41,312	25,501	1,894	<b>45,000</b>
<b>TOTALES</b>	<b>1,574,180</b>	<b>2,124,601</b>	<b>1,183,576</b>	<b>7,143,000</b>

**Fuente:** (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2005).

Cuadro 2. Volumen madera de encino (*Quercus* spp) procesado y plagado en los Estados de Durango y Michoacán.

ESTADO	No. de industrias	Volumen de madera procesado ( m <sup>3</sup> )	Volumen de madera plagado por <i>Lyctus</i> ( m <sup>3</sup> )
Durango	3	308,402	96
Michoacán	9	15,566	205

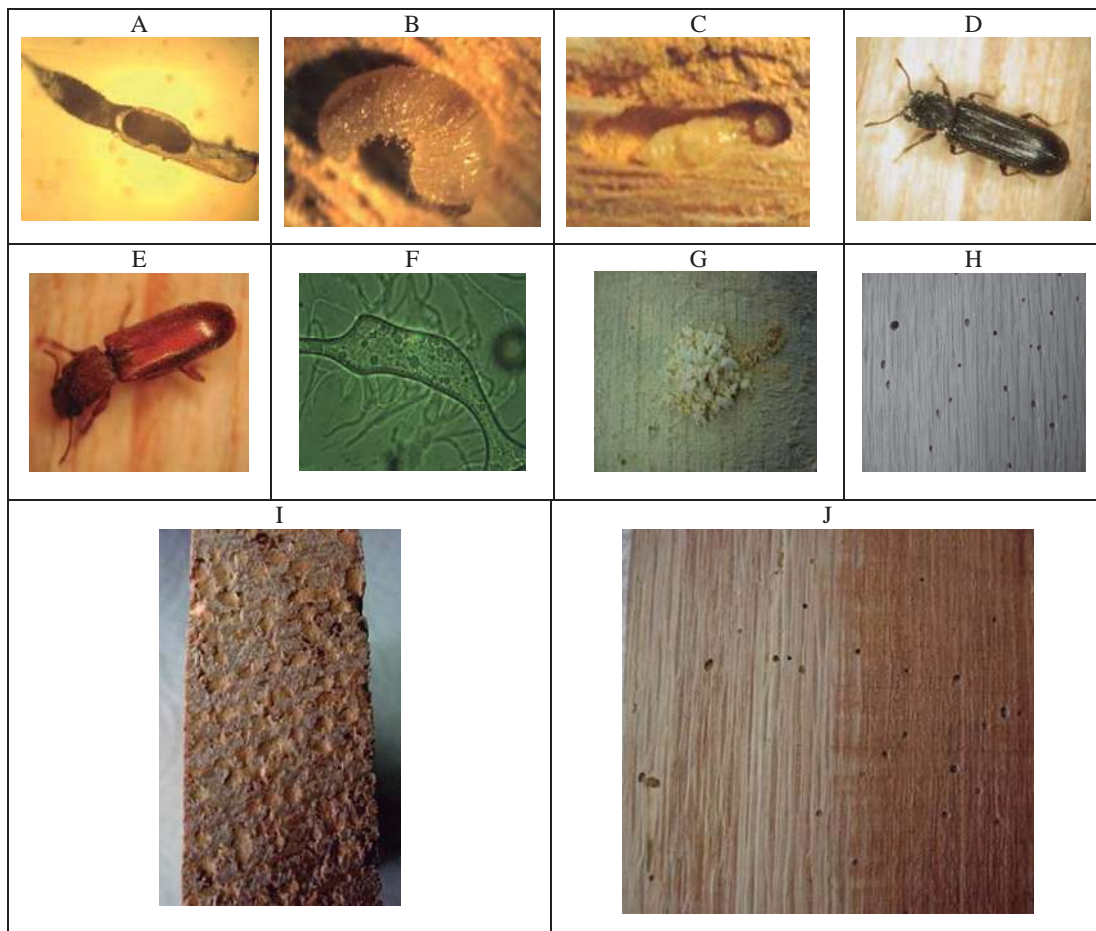


Figura 1. Ciclo de vida del *Lyctus* y el deterioro que causa en la madera seca. A). Huevos, B). Larva, C). Pupa, D) Adulto *Lyctus planicollis*, E) *Lyctus linearis* Goeze, F) Microbiota de *Lyctus*, G) Polvo fino expulsado por *Lyctus* antes de emerger, H y J) Perforaciones hechas por *Lyctus* después de emerger en madera cepillada, I) Corte transversal de madera de encino deteriorada por *Lyctus*.



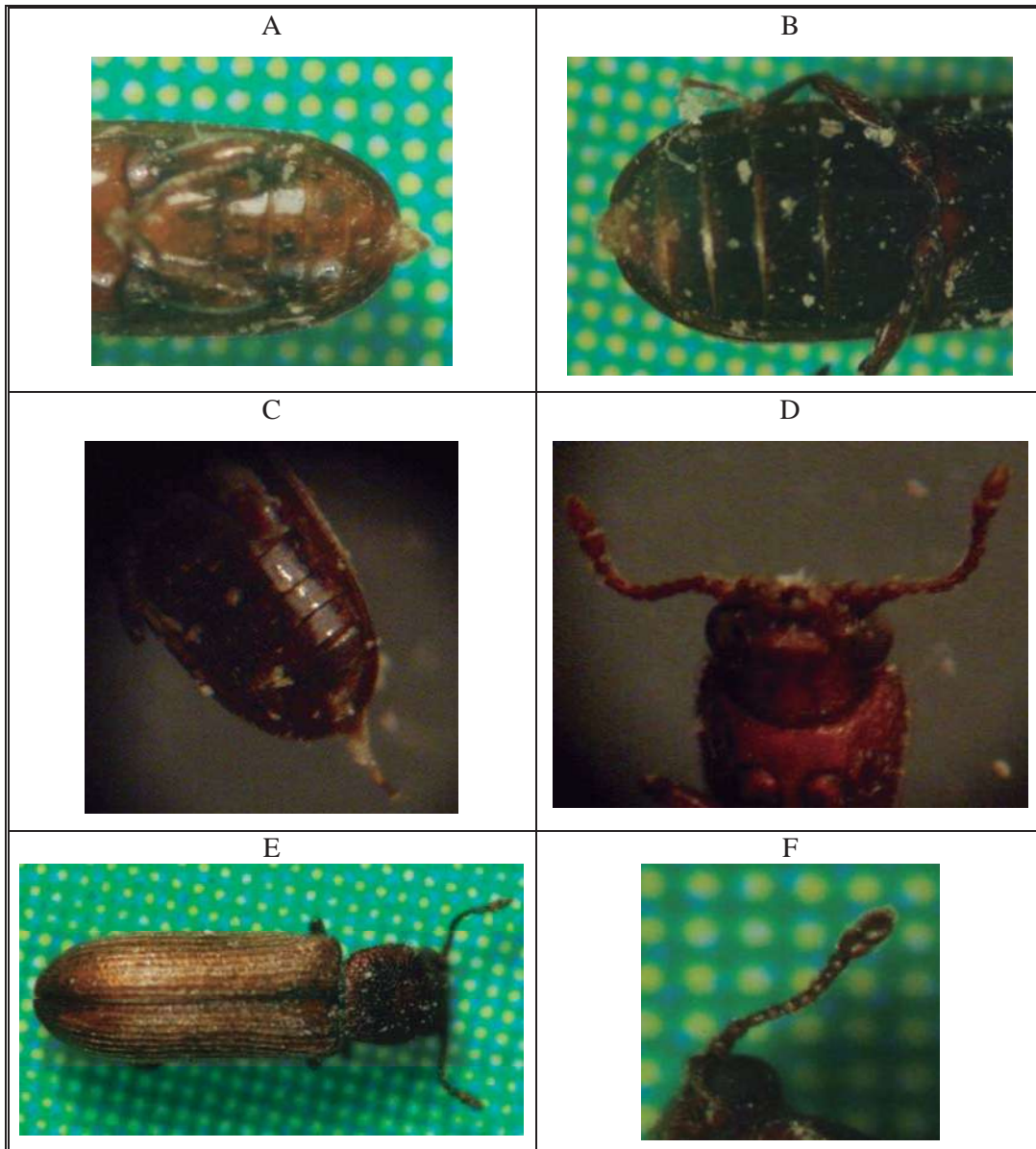


Figura 2. El *Lyctus linearis* Goeze es de color rojo y mide de 3 a 5 mm, A) Los segmentos abdominales en hembras, el último es triangular en la parte central, B) Segmentos abdominales en machos, el último en la parte central es redondo, C) Las hembras presentan ovipositor largo, D y F) Las antenas están conformadas por once artejos y los dos últimos engrosados y E) El pronoto es cuadrado.

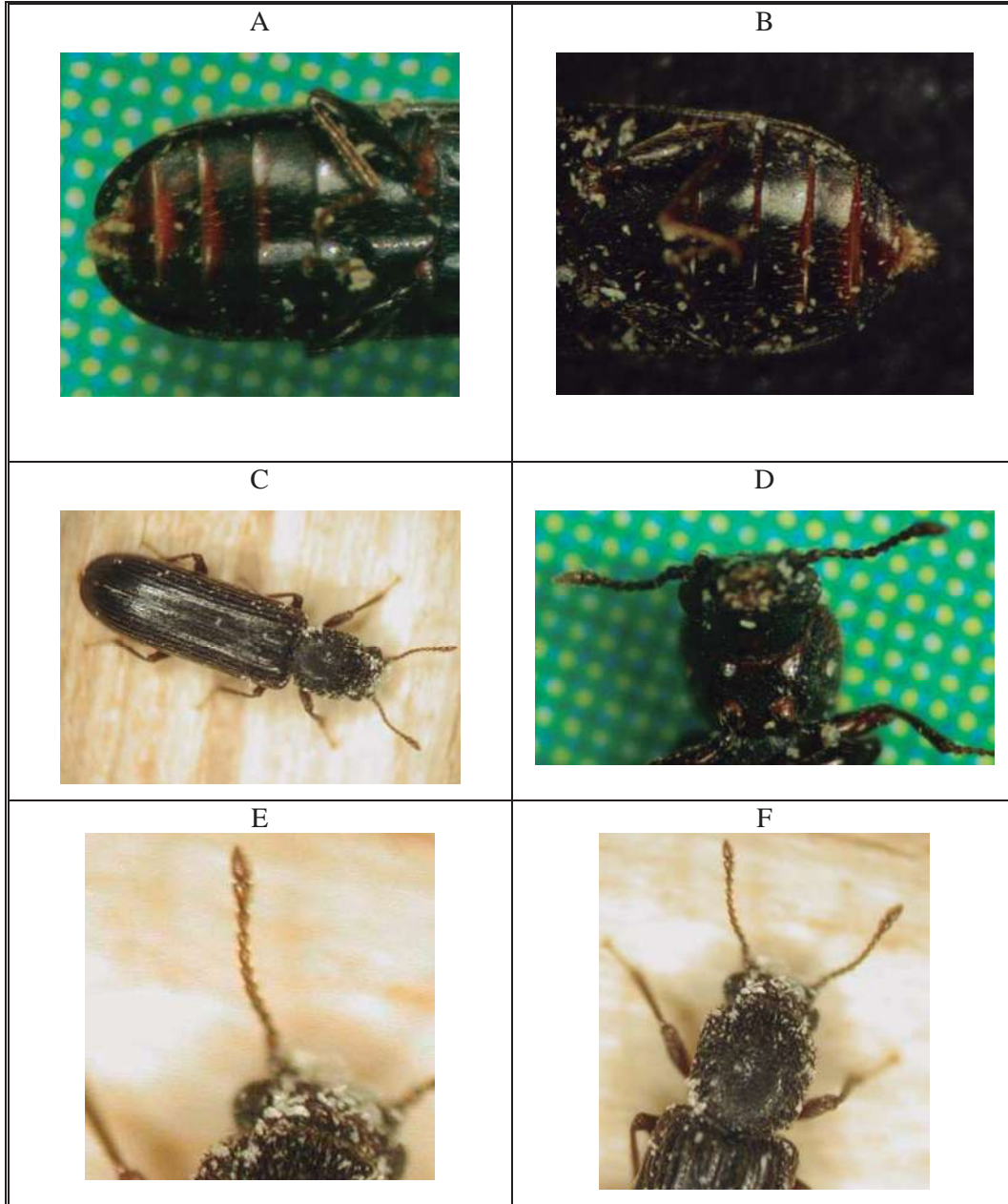


Figura 3. *Lyctus planicollis* LeConte, es de color café oscuro a negro y mide de 2 a 7 mm, A) El último segmento abdominal en hembras es triangular en la parte central, B) En machos el ultimo segmento abdominal en al parte central es redondo, C) Adulto de *Lyctus linearis* Las hembras presentan ovipositor largo, D y E) las antenas son de 11 artejos con los dos últimos engrosados y F) El pronoto es cuadrado con las esquinas redondeadas.



Figura 4. Estados de la República Mexicana en donde se ha reportado la presencia de insectos barrenadores de madera seca del Género *Lyctus*.

## **2. El extracto acuoso de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. protege madera seca contra insectos xilófagos barrenadores**

### **Resumen**

El extracto de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb protege la madera de pino, en experimentos de alimentación forzada se obtuvo mortalidades del 83% en los discos de madera impregnada con sales de boro, 77% en los impregnados con extracto de *E. cyclocarpum*, 3% en los discos control sin tratamiento. En el ensayo de protección de madera de *Quercus* spp se tomó la reducción en el número de orificios de salida como una disminución en el grado de infestación de la madera de encino. Los compuestos químicos detectados en el análisis de Cromatografía de Gases acoplado amasas la literatura consultada sugiere que los mayoritarios tienen característica

### **Introducción.**

En la protección de la madera seca contra insectos barrenadores se aplica por presión y vacío preservadores convencionales tales como las sales hidrosolubles de cobre, cromo, arsénico, zinc, boro o los derivados del petróleo como la creosota. Todos ellos son productos de gran persistencia ambiental, son tóxicos al hombre, con impacto negativo en el medio ambiente y la madera es teñida por las sales y compuestos oleosos, motivos por los cuales se pretende restringir su uso (Vignote y Jiménez, 1996). Por otra parte el abuso de químicos utilizados en la preservación de la madera seca ha causado que un número creciente de insectos y otros organismos adquieran resistencia a estos químicos haciendo difícil su control (Zobery, 1995). Actualmente se presenta una tendencia mundial para sustituirlos por nuevos productos alternativos y amigables al ambiente. Una alternativa para

la protección de la madera seca son los metabolitos secundarios de plantas que poseen resistencia natural a plagas y enfermedades, tal como la madera seca de duramen de *Enterolobium cyclocarpum* y *Lonchocarpus castilloi* Standley, (Chudnoff, 1984; Francis, 1988; Guridi, 1980; Grace and Yamamoto 1994 y Reyes *et al.*, 1995). En México existen escasos reportes científicos a cerca del daño a productos derivados de la madera seca de *Pinus* spp y *Quercus* spp. causado por los barrenadores mas destructivos de madera seca de los géneros *Incisitermes* (ISOPTERA: KALOTERMITIDAE) y *Lyctus* (COLEOPTERA:LYCTIDAE). Ambos géneros poseen especies barrenadoras de madera seca cosmopolitas de ciclos de vida largo y sofisticado, que en alguna fase de su ciclo de vida producen galerías en la madera en la búsqueda del celulosa y almidón, causando una disminución en la resistencia y la durabilidad del producto derivado de la madera de *Pinus* spp y *Quercus* spp, originando una gran pérdida económica al considerar que anualmente en México se extraen e industrializan para muebles, pisos y otros enceres aproximadamente 7,500,000 y 434,000 m<sup>3</sup>R de madera de *Pinus* spp y *Quercus* spp., respectivamente (SEMARNAT 2006). Las maderas de encino y pino requieren de un tratamiento de preservación debido a que contienen a los sustratos alimenticios almidón y celulosa para insectos barrenadores de madera seca como *L. planicollis* e *I. marginipennis*.

Con la presencia de powder post beetle que preferentemente destruye madera seca de *Quercus* spp. y de la termita que destruye la madera seca de *Pinus* spp., el potencial económico de la industrialización de la madera de *Pinus* spp. y de *Quercus* spp., la toxicidad de los químicos utilizados en la preservación de madera y con el uso de la herbolaria local, nos planteamos el objetivo de determinar si el extracto acuoso de madera del duramen de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb, (parota, nombre común) un árbol endémico de México y América Central, en cuya madera de duramen se ha

observado una resistencia natural a la biodegradación, es capaz de proteger la madera seca de *Pinus* spp y *Quercus* spp del deterioro que causan *Incisitermes marginipennis* y *Lyctus planicollis*.

## Material y Métodos

Material biológico. La identificación taxonómica de *Incisitermes marginipennis* se hizo empleando las claves (Modificada de Krishna 1970; Nickle y Collins 1988) para separar familias de Isóptera en México, la separación se realizó en base a la casta de los soldados. La identificación de *Lyctus planicollis* se hizo empleando las claves taxonómicas de los siguientes autores: Arnett (2000), Fisher (1950), Gerber (1956) y Jackman (2001). El material biológico estudiado se encuentra depositado en la Colección Entomológica Forestal, así como en la Xiloteca de la Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Michoacán, México.

Se obtuvo material plagado con *Incisitermes marginipennis* y *Lyctus planicollis* en tres localidades michoacanas productoras de madera de *Pinus* spp. y de *Quercus* spp.; Huandacareo (19° 59' 22" latitud Norte y 101° 16' 31" longitud Oeste, a una altura sobre el nivel del mar de 1840 m), Uruapan (19° 22' 18" latitud Norte y 102° 03' 19" longitud Oeste, una altura sobre el nivel del mar de 1634 m) y Morelia (19° 42' 16" latitud Norte y 101° 11' 3" longitud Oeste y a una altura sobre el nivel del mar de 1941 m). Para la aclimatación de los insectos, estos se mantuvieron en una cámara cerrada y oscura a una temperatura promedio de 25 °C y humedad relativa ambiente del 12 al 15 %, durante un mes antes de las pruebas de protección.

En la fabricación de encerados domésticos y de la construcción se utiliza la madera de parota sin tratamiento de preservación debido a que es una madera dura con una gran durabilidad natural y resistente al biodeterioro. La madera se trituro hasta obtener un polvo fino que se almacenó a -20 °C hasta su uso. A 2 kg de polvo de madera se le adicionó agua desionizada y se calentó a 40 °C durante 15 a 20 min, después se recolectó la infusión y se concentró por liofilización y se almacenó a -20 °C hasta su uso.

Impregnación y retención de sólidos en la madera de *Pinus* spp. y *Quercus* spp. La retención de sólidos en los discos de madera de pino impregnados con los tratamientos se determinó por la diferencia de peso de los probes y fueron: a) Para la disolución de sales de boro [0.7% disodio tetraborato decahidratado ( $\text{Na}_2 \text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) combinado con 0.5% ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) en solución] la retención fue de  $0.0387 \text{ g/cm}^3$ . b) En el extracto acuoso de *Enterolobium cyclocarpum* se tuvo una retención de sólidos de  $0.0583 \text{ g/cm}^3$ , valores que superan los reportados en COMACO 1994, ( $0.0032 \text{ g/cm}^3$  de sales de boro), para un riesgo bajo de deterioro causado por los insectos barrenadores de madera seca.

Se determinó el grado de impregnación midiendo la penetración del extracto vegetal y de sales de boro en cortes transversales de los bloques de madera de *Quercus* spp. tratados. La penetración del extracto vegetal acuoso fue total y de DTB fue 7.1 mm en todos los probes, lo que supera la especificación recomendada en la norma internacional de COMACO (1994) de una penetración mínima de 3.2 mm del preservador para un bajo riesgo de deterioro.

Ensayo de protección de la madera seca. Protección de madera seca de *Quercus* spp. Para cada tratamiento se utilizaron 15 bloques de madera de albura de *Quercus* spp. (2x4x20 cm), previamente impregnados con sales de boro y el extracto acuoso vegetal durante 36 horas, secados al aire y puestos en contacto con material plagado de *Lyctus planicollis*. (quince bloques con promedio de 2 perforaciones por  $\text{cm}^2$ ), en recipientes herméticamente cerrados. Las observaciones se hicieron cada cuatro meses y la protección de la madera se reporta como disminución en el número de orificios de salida por donde emergió un insecto adulto de la madera de *Quercus* spp. Para los ensayos de protección de madera seca de *Pinus* spp. se utilizaron probes de 0.6 mm de grosor, con un volumen de  $0.964 \text{ mm}^3$ , la protección de la madera seca de *Pinus* spp. se reporta como la pérdida de peso del probe.



En ambos ensayos de protección los drywood probes tuvieron un testigo negativo (control) e impregnados con DTB como testigo negativo y con  $0.2 \text{ gr}\cdot\text{ml}^{-1}$  de extracto acuoso de *E. cyclocarpum* que es la cantidad recomendada para productos derivados del neem tree encima se colocaron 25 termitas ninfas (Koono and Dorn, 2005).

Chemical analysis del extracto acuoso de *E. cyclocarpum*. Los análisis se llevaron a cabo en un cromatógrafo de gases Agilent 6850 Series II, acoplado a un espectrómetro de masas Agilent MS detector 5973 y con una columna HP-5 MS (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu\text{m}$ ) bajo las siguientes condiciones: el gas acarreador fue Helio con una presión de 13.3 psi y flujo de columna de 1 ml/min, la temperatura inicial del horno fue de 150 °C por 3 min con incrementos de 5 °C/min, la temperatura final fue de 278 °C y se mantuvo por 5 min. Las temperaturas del inyector y de la línea de transferencia fueron de 270 y 300 °C, respectivamente. Los parámetros del espectrómetro de masas fueron las siguientes: presión de la fuente de 50 mTorr, voltaje del filamento de 70 eV y una velocidad de scanning de 1.9 scan/s. La identificación de los compuestos se realizó por comparación con los espectros de masas de la librería NIST Rev. D.04.00 2002.

Los experimentos se hicieron al menos tres veces, con tres replicas para cada condición y cada tiempo, el análisis estadístico se realizó en el paquete estadístico Statistic 7.0 a un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ .

## Resultados

Protección de madera seca de *Pinus* spp. con el extracto acuoso vegetal de *E. cyclocarpum* contra el deterioro causado por *I. marginipennis*.

Discos de madera seca de *Pinus* spp se impregnaron con un extracto acuoso de madera de duramen de *E. cyclocarpum* con una retención de sólidos de  $0.0583 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ , y se les dio como alimento a termitas ninfas de *I. marginipennis*, el control positivo fue la alimentación de las termitas con sales de boro y el control negativo fue madera probes sin preservador. El deterioro del disco de madera seca de pino tratado tanto con el extracto acuoso como con sales de boro fue de 23 y 37 %, respectivamente (el consumo de madera impregnada con el extracto de *E. cyclocarpum* fue de 0.78% y con sales de boro de 1.23%. En tanto que en el control sin tratamiento fue evidente el deterioro de la madera medido como pérdida de peso (Figura 1A). También, se observó que a los 45 días de alimentación forzada con el extracto acuoso vegetal se indujo la muerte del 77 % de las termitas. En el grupo de termitas alimentadas con madera protegida con sales de boro la mortalidad fue del 83 % y la mortalidad de termitas alimentadas con madera de pino sin tratamiento (testigo negativo) fue de 3 % (Figura 1B).

Protección de madera seca de *Quercus* spp con el extracto acuoso vegetal de *E. cyclocarpum* contra el deterioro causado por *Lyctus planicollis*

El efecto protector del extracto acuoso de *E. cyclocarpum* en la madera seca de *Quercus* spp se determinó a los 25 meses de exponer la madera impregnada y expuesta al material plagado con *L. planicollis*, los resultados de la protección relativa medida como la disminución de orificios de salida se muestran en la Figura 2. A los 25 meses de exposición de los bloques de madera impregnados con los preservadores, se encontró que la protección que dieron el extracto de *E. cyclocarpum* ( $0.2 \text{ gr}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) fue de 73 %, el sales de

boro fue de 92 % y en el testigo sin tratamiento no hubo protección al ataque de *L. planicollis* (panel A). El curso temporal de aparición de orificios de salida producidos por la emergencia de insectos adultos después de 25 meses se muestran en el panel B. En los bloques de madera protegidos con el extracto acuoso vegetal, sales de boro y en el control negativo se contabilizaron 27, 7 y 84 orificios de salida, respectivamente.

### **Composición química del extracto acuoso del duramen de *Enterolobium cyclocarpum* determinada por GC/MS.**

Los principales compuestos fenólicos presentes en el extracto acuoso de *E. cyclocarpum* fueron tentativamente identificados en base a la comparación de la masa espectral y a los tiempos de retención obtenidos en un cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masas. Los compuestos fenólicos cuya abundancia relativa importante fueron el; 4-metil-fenol (4.51 %), fenol (3.12 %), 2-metoxi-fenol (1.77 %), carveol (0.28 %), 2-metoxi-4-metil-fenol (0.60 %), mentol (0.22%), 4-etil-2-metoxi-fenol (0.17 %), eugenol (0.20%), 2,6-dimetoxi-fenol (0.06 %).

### **Discusión**

En este estudio se demuestra que el extracto acuoso de *E. cyclocarpum* protegió a dos tipos de madera seca de importancia económica la obtenida de *Pinus* spp y de *Quercus* spp., de los insectos barrenadores de madera seca mas desbastadores que se conocen hasta hoy, denominados en forma genérica “polillas” para referirse a dos tipos de insectos a las termitas y al *Lyctus*. Nombres comunes que comprenden varias especies de insectos barrenadores de madera seca.

La madera de pino impregnada con el extracto acuoso después de 45 días fue menos dañada que el control negativo por la termita de madera seca *Incisitermes marginipennis* y se comportó en forma similar a la madera de pino tratada con sales de boro, indicando que

son igualmente efectivos en la protección de esta madera. Asimismo el extracto acuoso de *E. cyclocarpum* indujo la muerte de las termitas durante el ensayo de protección de madera. Estos resultados están en acuerdo con los reportados por Carter et al. (1975) en el que describe que extractos de *E. cyclocarpum* obtenidos con pentano y una mezcla de acetona:hexano:agua (54:44:2 por volumen) ejercieron un efecto letal antitermita. Sin embargo, los compuestos extraídos fueron de naturaleza hidrófoba y utilizaron a la termita subterránea tropical *Coptotermes formosanus* Shiraki, una especie de las denominadas termitas superiores cuya función en la ecología del suelo y reciclaje de *detritus* vegetales es importante (Abe et al., 2000). Por otra parte, en el presente estudio se utilizaron los compuestos extraíbles con agua del duramen de *E. cyclocarpum* y una termita inferior *I. marginipennis* que su ciclo de vida lo lleva al cabo dentro de la madera seca de pino y tiene una estructura social y ciclo de vida diferente a la de *C. formosanus* Shiraki y a otras termitas superiores (Abe et al., 2000)

La madera seca de encino impregnada con el extracto acuoso de *E. cyclocarpum* y expuesta dos años y medio a la infestación por lictus, presentó un número menor de orificios de salida producidos por el insecto adulto *L. planicollis* (el lictus usado en este estudio). Mostró una protección similar a la que tuvieron los bloques de madera de encino impregnadas sales de boro, sugiriendo una efectividad similar entre ambos preservadores. En el ensayo de protección de madera se tomó la reducción en el número de orificios de salida como una disminución en el grado de infestación de la madera de encino. Es posible que también controlen la infestación de otras maderas ricas en almidón que causan otras especies de lictidos, tales como *L. brunneus* (Stephens), *L. caribeanus* Lesne, *L. sinensis* Lesne y *L. linearis* (Goeze) (Cibrián Tovar et al., 1995; Findlay, 1967; Baker, 1972; Kraemer 1958).

*E. cyclocarpum*, es un árbol que crece desde las vertientes centrales del pacífico y del Golfo de México hasta el Norte de Brasil y sur de Colombia. En México el principal uso de la madera de parota es en la fabricación de muebles ya que es una madera dura con gran resistencia al deterioro que causan algunos microorganismos e insectos barrenadores de madera seca. la madera de duramen. Natural. le conoce con el nombre de “parota”, la madera de duramen En la medicina tradicional se utilizan las infusiones de la corteza o de las vainas para controlar el salpullido o bien como depurativo, mientras que la goma es empleada para combatir la bronquitis y el resfriado común. Los frutos verdes son astringentes y se utilizan en casos de diarrea (Francis, 1988). Ivan *et al* (2002) describió que las saponinas del follaje de *E. cyclocarpum* tiene transient antiprotozoal activity en el sheep rumen con un periodo efectivo de 12 a 14 días. Por otra parte las semillas contienen un aminoacido no proteico, el ácido pipecólico un osmoprotector en la bacteria *Sinorhizobium meliloti* (Gouffi, *et al* 2000), *E. cyclocarpum* es pastura (Otero Arnaiz *et al.*, 1999).

Los compuestos semivolátiles identificados como mayoritarios fueron: el *d*-limoneno (17.83%), *p*-cimeno (10.93 %) se ha descrito como insecticida y repelente, controla ácaros, garrapatas, piojos y pulgas (Were y Whitacre, 2004), butilato hidroxitolueno (7.01%) se ha descrito como un agente antioxidante y conservador. (Secretaria de Economía-Dirección General de Normas), el  $\alpha$ -terpienol (5.60 %) es un insecticida, controla ácaros, mosca, hongos domestica y nematodos (Arcila, *et al* 2004), el  $\alpha$ -terpineol (5.60 %) se ha reportado como insecticida, afecta huevesillos y adultos de *Mayetiola destructor* (mosca de Hess) (Arcila *et al.*, 2004), el cloroformo (4.91 %) se ha descrito como un insecticida y en el pasado se uso como anestésico. No se descarta que los

compuestos minoritarios sean complemento de la efectividad de la repelencia de termitas y del efecto antialimentario, (Cuadro 1).

El extracto de *E. cyclocarpum* se analizó por Resonancia Magnética Nuclear, se detectaron dos compuestos el pinitol, de la familia de los ciclitoles, este compuesto estimula el ingreso de glucosa en células musculares, sintetiza glucógeno; es útil para el tratamiento de la obesidad e hipertensión, inhibe el crecimiento de larvas de *Heliothis zea* en hojas de soya y frutos del maíz (Dreyer *et al.*, 2005) y el 13-epimanol tiene una actividad leishmanicida (una enfermedad de la piel) (Morales *et al.*, 2000).

*E. cyclocarpum* es un árbol con gran potencial agroforesteril escasamente utilizado en México. Se conoce que el duramen contiene flavanonas y flavonoles (Domínguez 1988; Markham 1982), flavonoides como naringenina, hesperina y flavonas como la quercitina catequina y petunidina (Conde Arias 1993; Ribereau-Gayon 1972). Todos estos compuestos mostraron actividad fungicida contra hongos destructores de la madera tales como *Cheatomium globosum*, *Trametes versicolor* y *Trichoderma viridis* (Lyn *et al.*, 1975; Benitez y Montecinos 1988; Ruitaga *et al.*, 1995). Antocianidinas, taninos (proantocianidinas), fenólicos, procianidinas (Gross *et al.*, 1981; Wang y Hart 1983; Vazquez *et al.*, 1997).

#### ***Acknowledgements.***

This work was supported by Fondos Mixtos-Gobierno del Estado de Michoacan-CONACYT program and scientific research UMSNH program to the 2005-C01-009 and UMSNH CIC 2.1-MMP projects. D.R.G. hold a CONACYT postgraduate scholarship.

## **Bibliografía**

Abe, T., Bignell, D.E., Higashi, M. 2000. Termites: Evolution, sociality, symbiosis, ecology. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.

Anónimo 1. Anuario estadístico de Michoacán de Ocampo, 2000. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.

Anónimo 2. Madera en la construcción, A. C. Comisión forestal de América del Norte. México, D. F. 472 pp.

Anónimo 3. INEGI 2006. <http://mapser.INEGI.gob.mx/geografia/>

Arnett, R.H. Jr. 2000. American insects. A handbook of the insects of America North of Mexico. 2<sup>nd</sup> Ed. CRC Press LLC. USA 1003 p.

Arcila Lozano, C. C., Loarca Pina, G., Lecona Uribe, S. y González Mejía, E. 2004. El orégano; propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. Caracas Venezuela. Vol. 54(1) p100-111.

Benítez y Montecinos 1988

Cibrián Tovar, D., Mendez Montiel, J.T., Campos Bolaños, R., Yates, H.O., Flores Lara, J.E. 1995. Forest insect of México. Ed. Universidad Autónoma Chapingo. Pp. 424.

COMACO, 1994. Manual de la construcción de estructuras ligeras. Comisión Forestal de America del Norte. Consejo Nacional de la Madera en la Construcción, A.C. México, D.F. pp. 472

Chudnoff, M. 1984. Tropical timbers of the world. Agric Handb 607. Washington, DC: U. S. Department of agriculture. 466 p.

Dreyer, D. L., Chan, B. G., Waiss Jr, A. C., Hartwing E. E. y Beland, G. L. 2005. Pinitol, a larval Growth inhibitor for *Heliothis zea* in soybeans. Journal Celular and molecular Lif Sciences. Vol. 35(9) 1182-1183 p.

- Fisher, W.S. 1950. A revision of the North American species of beetles belonging to the family Bostrichidae. Unites States Dept. Agric. Misc. Publ. 698, 157 p.
- Francis, J.K. 1988. *Enterolobium cyclocarpum* (Jack.) Griseb. Guanacastle, earpod-tree. SO-ITF-SM-15. New Orleans, L.A. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experimental Station, p. 4
- Gerber, E. J. 1956. A revision of the New World species of powder-post beetles belonging to the family Lyctidae. USDA Technical Bulletin 1157. 70 p
- Jackman, J. 2001. Wood-boring beetle identification keys. <http://entowww.tamu.edu/Extension/Insctans/identificacion/woodboringbeetles/couplet0.html>
- Koona, P., Dorn, S. 2005. Extract from *Tephrosia vogelii* for the protection of stored legume seed against damage by three bruchid species. Ann. Appl. Biol. 147:43-48.
- Kraemer, K. G. 1958. Compendio de la conservación de la madera. Ed. Santander. España. Pp. 526.
- SEDGN, 2006. Secretaría de Economía, Dirección General de Normas.
- SEMARNAT 2006. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales
- Vignote, P. S. y Jiménez Pérez, F. J. 1996. Tecnología de la madera. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, España 602 pp.
- Zoberi, M. H. 1995. *Materrhizium anisopliae*, a fungal pathogen of *Reticulitermes flavipes* (Isóptera: Kalotermitidae), *Micology*. **87**(3):354-359 p.
- Findlay, W. P. K. 1967. Timber pest and disease. Monographs on furniture and timber. Vol. 5 Pergamon Press. 280 p.
- Baker, W.L. 1972. Eastern forest insects. USDA For. Serv. Misc. Publ. 1175. 642 p.



- Carter, FL. Beal, R.H., Bultman J.D. 1975. Extraction of antitermitic substances from 223 tropical hardwood. *Wood Science* 8:406-410.
- Conde Arias 1993
- Swain, T., Hillis, W. E. 1995. The phenolic constituents of *Prunus domestica* I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Asci. Food Agric.* 10:6368.
- Vazquez et al. 1997
- Wang y Hart 1983
- Espejel, J. y Martínez E. 1979. El guanacaste. Inireb informa, Comunicado 33:1-6. Veracruz, Mex.
- Reyes Chilpa, R., Viveros Rodríguez, N., Gómez Garibay, F. y Alavez Solano D. 1995. Antitermitic activity of *Lonchocarpus castilloi* flavonoids and heartwood extracts. *Journal of Chemical Ecology* Vol. 21(4)
- Rutiaga Quiñones, J.G., Windeisen ????, Chumacher????1995. Kurz-originalia brief originals. Antifungal activity of heartwood extracts from *Dalbergia granadillo* and *Enterolobium cyclocarpum*. *Holz als Roh und Wesrstpff.* 53:308-????
- Morales, G., Sierra, P., Borquez, J. y Loyola, A. L. 2000. Rigidusido, un nuevo Glicoditerpenoide de *Hplopappus Rigidus*. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química* ISSN 0366-1644. 6 p.
- Otero Arnaiz, A., Castillo, S., Meave, J., Ibarra Manríquez, G. 1999. Isolated pasture tree and the vegetation under their canopies in the Chiapas coastal plains, Mexico. *Biotropica*, 31: 243-254.
- Hughes, C.E., Stewart, J.L. 1990. *Enterolobium cyclocarpum*: The era pod tree for pasture, fodder and wood. Oxford Forestry institute. South Parks Road, Oxford OXI 3RB, UK.
- Ivan, M., Mir, P.S., Koenig, K.M., Newbold, C.J., Entz, T., Ride, L.M., Ibrahim, M. 2002. Use of dietary saponin or vegetable oil to control protozoal populations in the rumen of

sheep. 6<sup>th</sup> International Conference on Agricultural Biotechnology. New Avenues for production, consumption and technology transfer. Ravello, Italy from July 11 to 14.

Were, G. W. y Whitacre D. M. 2004. Introduccion a los insecticidas. Texto mundial del MIP. University of Minesota. U.S.A. 27 p.

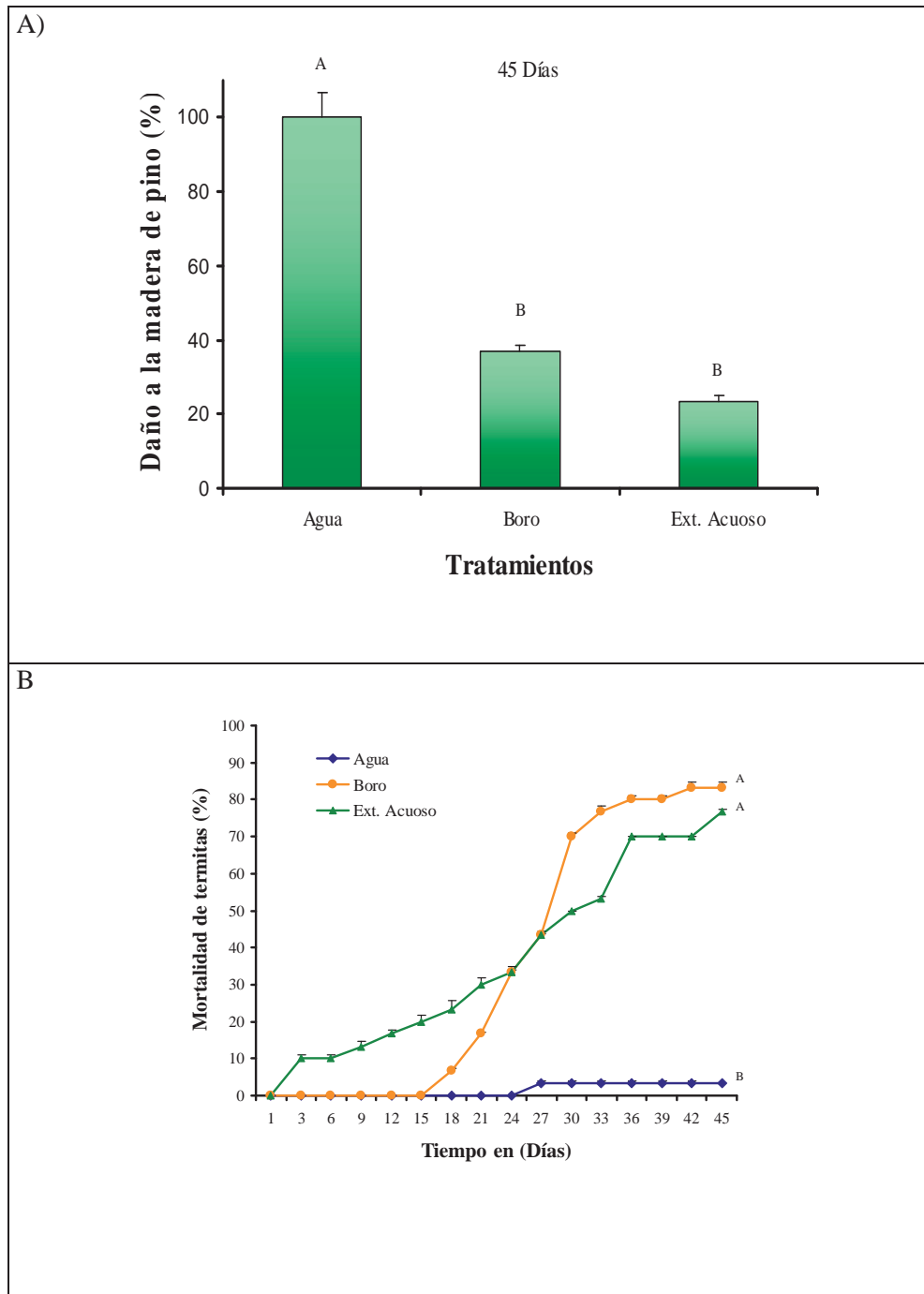
Cuadro 1. Compuestos del extracto de *Enterolobium cyclocarpum* detectados por Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas.

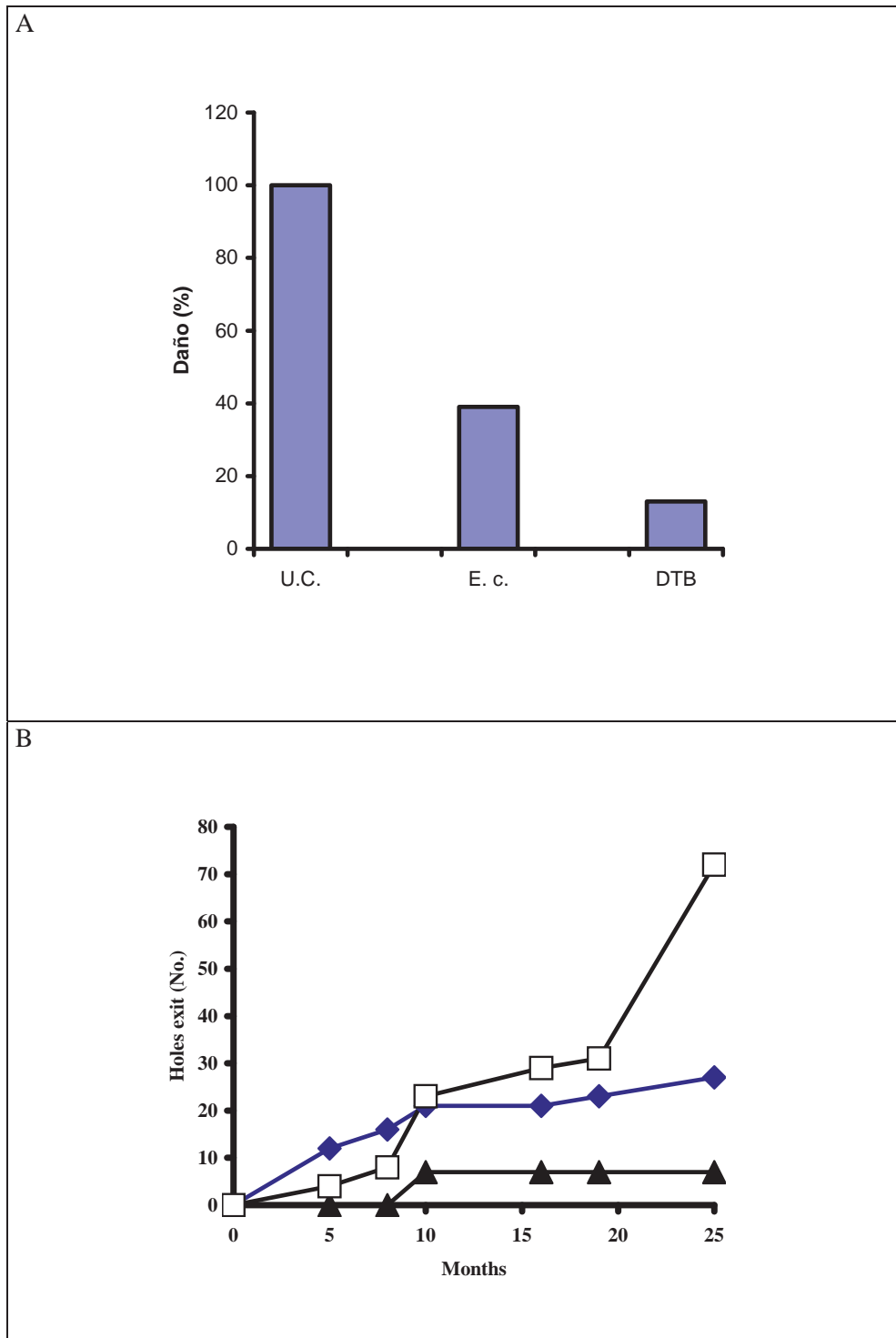
Retention Time	Area	Relative abundance	Name Phenolic compounds
25.49	700293	0.57	Acetofenone
27.718	2533518	2.070	Benzene 1,2 dimethoxy
28.935	898816	0.734	Ethanone 1-(methyl phenyl)-
29.59	687040	0.561	Oxime, methoxy phenyl
30.579	676075	0.552	3,4 dimethoxy toluene
31.892	6442735	5.262	<i>p</i> -cymen-8-ol
32.332	2360955	1.928	Phenol 2-methoxy
33.045	478475	0.391	Paenol
33.848	93315503	76.22	Butylated hydroxytoluene
33.998	535305	0.437	Phenyl ethyl alcohol
35.522	797655	0.651	Phenol, 2-methoxy-4-methyl
35.856	403407	0.329	1,2,3 trimethoxy benzene
37.301	4153615	3.392	Phenol
37.468	467548	0.382	2,4-dimethylphenethyl alcohol
37.892	227117	0.186	Phenol, 4-ethyl-e-methoxy
39.949	6009199	4.908	Phenol, 4-methyl
40.097	86100	0.070	Phenol 2,6-dimethoxy
42.145	260794	0.213	Eugenol

Figure 1. Protección de madera seca de *Pinus* spp por *Enterolobium cyclocarpum* contra *Incisitermes marginipennis*. A). Curso temporal de muerte de la termita causada por el preservador. B) Protección de la madera de *Pinus* spp con el preservador expresado como la pérdida de peso relativa (%) de probe *Pinus* spp; U.C. is untreated control (-□-); *Enterolobium cyclocarpum* extract aqueous(-◆-), sales de boro ( $\text{Na}_2\text{BH}_4$ ) positive control (-▲-). Bars is SE with same letters are not significantly different ( $p < 0.05$ ) by the Student's paired *t*-test. n = \_\_\_\_.

Figure 2. Protection to *Quercus* spp drywood by an *Enterolobium cyclocarpum* aqueous extract against *Lyctus planicollis*. A) holes exit acumulative on drywood *Quercus* spp. B) Damage percent after 25 month post treatments of protection. UC, untreated control (-□-); E.c. *Enterolobium cyclocarpum* (-◆-); DTB ( $\text{Na}_2\text{BH}_4$ ), positive control (-▲-). Bars is SE with same letters are not significantly different ( $p < 0.05$ ) by the Student's paired *t*-test. n = 30.

Figura 1





### **3. Un extracto acuoso de *Melia azedarach* L. protege a la madera seca de *Quercus laurina* del ataque de *Lyctus planicollis*.**

#### **Resumen**

*M. azedarach* es una especie vegetal filogenéticamente cercana al neem, cuya propiedad insecticida ha sido probada en varias especies de insectos nocivos de cultivos económicamente importantes, pero que no se ha probado su efecto contra insectos barrenadores de madera seca. La retención de los sólidos contenidos en el extracto acuoso de hoja de *M. azedarach* L. en la madera de *Q. laurina* (encino) fue de 12 kg/cm<sup>3</sup> y la penetración del extracto vegetal fue de 7 mm. El efecto protector de los extractos acuosos en la madera seca de *Q. laurina* se determinó a los 25 meses de exponer la madera impregnada al material plagado con *L. planicollis*. Se encontró que la madera preservada con el extracto, presentó un total de 23 orificios de salida y significó una disminución del daño de 68 % con respecto al control. En este trabajo se reporta por primera vez el efecto protector que ejerce un extracto acuoso de *M. azedarach* en la madera de encino (*Q. laurina*) contra la infestación de *L. planicollis* uno de los barrenadores de madera seca cosmopolita más devastador.

**Palabras claves.** *Lyctus planicollis*, *Melia azedarach*, protección de madera, *Quercus laurina*

#### **Introducción.**

El daño a productos derivados de la madera de *Quercus* sp. causado por barrenadores de madera seca del género *Lyctus* (COLEOPTERA: LYCTIDAE) es severo. En el país se ha reportado la presencia de algunas especies, tales como; *L. planicollis* Le Conte, *L.*

*brunneus* (Stephens), *L. caribeanus* Lesne, *L. sinensis* Lesne y *L. linearis* (Goeze) (Cibrián Tovar et al., 1995; Findlay, 1967; Baker, 1972; Kraemer 1958).

Los lyctos son barrenadores de madera seca cosmopolitas de ciclos de vida largo y sofisticado, que en la madera producen galerías en la búsqueda del almidón, causando una disminución en la resistencia y la durabilidad del producto derivado de la madera de *Quercus* sp. Adicionalmente en el país se extraen e industrializan aproximadamente 434,000 m<sup>3</sup>R de madera de *Quercus* sp. para muebles, pisos y otros encerados, que de no recibir un tratamiento preservador es madera susceptible al biodeterioro, ya que posee hasta un 63% de albura, un tejido vegetal rico en almidón (>1.5 %) el sustrato alimenticio para insectos barrenadores de madera seca, con la consecuente irreparable pérdida económica (INGI 2006).

Para la protección de la madera seca contra barrenadores se aplica por presión y vacío preservadores convencionales como las sales hidrosolubles de cobre, cromo, arsénico, zinc, boro o los derivados del petróleo como la cerosota (Anónimo 2). Todos ellos son productos de gran persistencia ambiental, son tóxicos al hombre, con impacto negativo en el medio ambiente y la madera es teñida por las sales y compuestos oleosos por lo que no es recomendable su uso (Vignote y Jiménez, 1996).

El abuso de químicos utilizados en la preservación de la madera seca causa que un número creciente de insectos y otros organismos presenten resistencia a estos químicos haciendo difícil su control. Por el impacto ambiental negativo de los preservadores convencionales, actualmente se presenta una tendencia mundial para sustituir a los productos químicos para el control de barrenadores de madera por nuevos productos alternativos y amigables al ambiente. Una alternativa para la protección de la madera son los metabolitos



secundarios vegetales utilizados en la medicina tradicional para tratar infecciones y parasitosis humanas o de plantas que poseen resistencia natural a plagas y enfermedades.

Considerando factores tales como la presencia de *Lyctus* sp un barrenador de madera seca de *Quercus* sp, el potencial económico de la industrialización de la madera de *Quercus* sp., la toxicidad de los químicos utilizados en la preservación de madera y con el uso de la herbolaria tradicional. *Melia azedarach* L. posee propiedades insecticidas similares a las de *Azadiracta indica* (neem), es un árbol de la familia de las Meliaceas mundialmente distribuido y propagado como planta de ornato del que se han descrito propiedades plaguicidas descritas contra insectos, moluscos y nemátodos ( Heiden 1991; Anónimo 2; Bohnenstegel et al.,1999; Borges et al., 2003). Por lo que nos planteamos el objetivo de determinar si un extracto acuoso de *Melia azedarach* L. es capaz de proteger la madera seca de *Quercus* sp del deterioro que causa *L. planicollis*.

### **Material y Métodos**

Material biológico. Se obtuvo material plagado de *L. planicollis*. en tres localidades michoacanas productoras de madera de *Q. laurina*; Huandacareo (19° 59' 22'' latitud Norte y de 101° 16' 31'' longitud Oeste y una altura sobre el nivel del mar de 1840 m), Uruapan (19° 22' 18'' latitud Norte y 102° 03' 19'' longitud Oeste y una altura sobre el nivel del mar de 1634 m) y Morelia city (19° 42' 16'' latitud Norte y 101° 11' 3'' longitud Oeste y un altura sobre el nivel del mar de 1941 m). Para la aclimatación de los insectos se mantuvieron en una cámara cerrada y oscura a una temperatura promedio de 25 °C y humedad relativa ambiente del 12 al 15 %, durante un mes antes de las pruebas.

Los extractos se elaboraron de hojas de *M. azedarach* L. Griseb. recolectadas de árboles de la región. El material vegetal se trituró en un molino de cuchillas (Thomas Scientific con

malla 60 ó 25 micrometros). A 2 kg del material vegetal molido se le adicionó agua desionizada y se calentó a ebullición durante 15 a 20 min, se recolectó la infusión. Las infusiones se concentraron por liofilización y se almacenaron a 20 °C hasta su uso. Los extractos de *M. azedarach* se aplicaron a bloques de madera de albura de *Q. laurina* Humb. et Bompl. a una concentración de 10 gr·l<sup>-1</sup> que es la cantidad recomendada para productos derivados del neem. (Koonan and Dorn, 2005). Se determinó el grado de impregnación en cortes transversales a los bloques de madera de *Q. Laurina*.

Ensayo de protección de la madera seca. Las condiciones fueron: Testigo, sales de Boro [20% Disodio tetraborato] , 0.2 gr·ml<sup>-1</sup> (1.5198 mg equivalentes fenólicos·ml<sup>-1</sup>) de extracto de *M. Azedarach* (Abou-Fakhr *et al.* 2001). Para cada tratamiento se utilizaron 15 bloques de madera de albura de *Q. laurina* (2x4x20 cm), previamente impregnados con los extractos vegetales o con las sales de Boro durante 36 horas y secados al aire y puestos en contacto con material plagado de *Lyctus* sp. (quince bloques con promedio de 2 perforaciones por cm<sup>2</sup>). Las observaciones se hicieron cada cuatro meses y el daño se reporta como el número de orificios de salida en la madera de *Quercus* sp por donde emergió un *Lyctus* sp adulto.

Se realizaron experimentos independientes por 25 meses al menos dos veces, en un arreglo completamente al azar. Se hizo un análisis de varianza (ANOVA de una vía) con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ . Las diferencias entre los tratamientos se determinaron con una prueba de *t*-Student ( $P < 0.05$ ). Se utilizó el paquete estadístico Statistic versión 7.0.

## **Resultados**

### **a) Retención y penetración de los sólidos del extracto acuso de hojas de *M. azedarach*.**

En los bloques de madera de encino (*Q. laurina*) se observó que la retención de las sales de

Boro fue de 12.8 kg/cm<sup>3</sup>, mientras que la de los sólidos contenidos en el extracto acuoso de hoja de *M. azedarach* L. fue de 12 kg/cm<sup>3</sup>

Se determinó que la penetración en los bloques de madera de encino de las sales de Boro fue de 7.1 mm y la del extracto vegetal fue de 7 mm.

**b) Protección de madera de *Quercus* sp con extractos vegetales de *M. azedarach* contra el deterioro causado por *Lyctus* sp.**

El efecto protector de los extractos acuosos *M. azedarach* en la madera seca de *Quercus* sp se determinó a los 25 meses de exponer la madera impregnada y expuesta al material plagado con *Lyctus* sp., los resultados se muestran en la Figura 1. Se encontró que los bloques impregnados con los extractos de *M. azedarach*, presentaron un total de 23 orificios de salida (panel A), los bloques impregnados con sales de boro (DTB) y el testigo sin tratamiento tuvieron 7 y 84 orificios de salida, respectivamente. Lo que corresponde a una inhibición del daño de 92 % con sales de boro y 27 % con extracto acuoso de hojas de *Melia azedarach* L. (panel B), con respecto al daño observado en el control negativo.

**Discusión**

En la comunicación química bidireccional que se establece entre la planta y un microorganismo patógeno o insecto depredador, los metabolitos secundarios cumplen una función central, ya que a la planta le utiliza como una defensa química ya sea de protección o de aniquilamiento. Ellos pueden actuar como insecticidas, como modificadores del ciclo de vida del patógeno o como disuasivos, tanto antialimentarios como repelentes. El entendimiento de la estrategia química natural de la de la defensa vegetal nos puede ayudar a enfocar al control de plagas integrado desde una mejor

perspectiva al incluir a componentes de extractos vegetales y a los mismos extractos en el control de organismos nocivos.

En este contexto se tienen varias moléculas de origen vegetal que ha revolucionado el control de plagas, tales como la rotenona o la nicotina y que posteriormente dieron origen a moléculas modificadas por síntesis química como los rotenoides y nicotinoideos (Heiden 1991). Sin embargo el inadecuado uso de estos insecticidas y a la natural co-evolución de la plaga a controlar han generado insectos resistentes, además de severos daños a la salud humana y al medio ambiente.

Recientemente otro éxito comercial en el control de insectos plaga ha sido el aceite del neem (*Azadiracta indica*) cuyo principio activo la azadiractina posee un gran poder insecticida contra varias especies de insectos nocivos (Heiden 1991; Roy y Saraf 2005). *M. azedarach* es una especie vegetal filogenéticamente cercana al neem, que también posee azadiractina y otros componentes insecticidas, cuya propiedad letal ha sido probada en varias especies de insectos que son plagas de cultivos económicamente importantes, pero que no se ha probado su efecto contra insectos barrenadores que deterioran a la madera seca.

En este estudio se probó un extracto acuoso de hojas de *M. azedarach* en la protección de madera seca de encino (*Q. laurina*) contra el insecto barrenador *Lyctus planicollis* LeConte, una de las plagas cosmopolitas mas devastadora y que genera grandes pérdidas económicas. Se observó que la retención así como la penetración de los sólidos del extracto acuoso de *M. azedarach* en la madera de encino superaron las especificaciones recomendadas en la norma internacional de COMACO (1994) que recomienda en la protección de madera seca de baja durabilidad y para un riesgo de deterioro bajo, que los preservadores penetren en la madera seca a proteger al menos 3.2 mm.

El extracto de *M. azedarach* mostró efectividad en la protección de madera de encino contra *Lyctus* sp, después de 25 meses disminuyó el número de orificios de salida del insecto adulto. Lo cual sugiere que algún(os) componente(s) del extracto ejercen un efecto disuasivo en *L. planicollis*. Los resultados reportados en este trabajo se suman a los obtenidos con *Melia dubia* (syn *M. azedarach*) donde se aisló la toosendamina y que tuvo eficacia en el control de *H. Armigera* (Koul et al., 2002). También aquellas observaciones en que los extractos de *M. azedarach* fueron efectivos contra la langosta *Schistocerca gregaria*, gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* y *S. litoralis*; ácaros *Merginina gynglimira*, *Panonychus citri* y *Tetranychia truncata*, contra garrapatas; *Boophilus micropulus* y *Otobius megnini*, caracoles, *Fossaria cubensis*, nematodos fitopatógenos *Meloidegyne incógnita*, *Anopheles stephensi* (Nathan SS et al. 2005; Roy y Saraf 2006).

La propiedad plaguicida de *Melia azedarach* L. se encuentra en todos los órganos del árbol, pero la mayor cantidad de metabolitos secundarios extraíbles se encuentran en las hojas jóvenes de donde se han extraído la meliacarpin, azadiractin, salinin, deacetylsalinin, nimbolin B, nimbolidin B, trichilin H y diacetiltrichilin B, con actividades insecticidas y antialimentaria contra una gran variedad de insectos (Bonhnenstengel et al 1999).

Es posible que la actividad protectora del extracto acuoso de hojas de *M. azedarach* se deba a estos metabolitos secundarios, estudios están en proceso para probar esta hipótesis. En este trabajo se reporta por primera vez el efecto protector que ejerce un extracto acuoso de *M. azedarach* en la madera de encino (*Q. laurina*) contra la infestación de *L. planicollis*, uno de los barrenadores de madera seca más devastador que causa pérdidas económicas anualmente en el orden de billones de dólares.

## **Agradecimientos**

Este trabajo fue apoyado por los Fondos Mixtos-Gobierno del Estado de Michoacán-CONACYT y por la UMSNH a los proyectos 2005-C01-009 y UMSNH CIC 2.1-MMP, respectivamente. D.R.G. es becario de posgrado del CONACYT. Un agradecimiento especial al M.C. A. Flores García por su ayuda en el análisis estadístico.

## **Bibliografía**

Abou-Fakhr Hammad, E.M., Zournajian, H., Talhouk, S. Efficacy of extract of *Melia azedarach* L. callus, leaves and fruits against adults of the sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* (Hom., Aleyrodidae). J. Appl. Ent. 125:483-488.

Anónimo 1. Madera en la construcción, A. C. Comisión forestal de América del Norte. México, D. F. 472 pp.

Anónimo 2. Anuario estadístico de Michoacán de Ocampo, 2000. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.

INEGI 2006. <http://mapser.INEGI.gob.mx/geografia/>

Baker, W.L. 1972. Eastern forest insects. USDA For. Serv. Misc. Publ. 1175. 642 p.

Bohnenstengel, F.I., Wray, V., Witte, L., Srivastava, R.P., Proksch, P. 1999. Insecticidal meliacarpin (C-seco limonoids) from *Melia azedarach*. Phytochemistry, 50: 977-982.

Borges, L.M.F., Ferry, P.H., Silva, W.C., Silva, J.G. 2003. *In vitro* efficacy of extract of *Melia azedarach* against the tick *Boophilus micropulus*. Medical and Veterinary Entomology 17, 228-2331.

Cibrian Tovar, D., Mendez Montiel, J.T., Campos Bolaños, R., Yates, H.O., Flores Lara, J.E. 2000. Forest insect of México. Ed. Universidad Autónoma Chapingo. Pp. 424.

- COMACO, 1994. Manual de la construcción de estructuras ligeras. Comisión Forestal de America del Norte. Consejo Nacional de la Madera en la Construcción, A.C. México, D.F. pp. 472
- Findlay, W. P. K. 1967. Timber pest and disease. Monographs on furniture and timber. Vol. 5 Pergamon Press. 280 p.
- Heiden P. 1991. Insecticidal constituents of *Azadiracta indica* and *Melia azedarach* (meliaceae). In: Naturally occurring pest bioregulators, Heiding P Ed. ACS Symp. Series. Washington DC pp 293-304.
- Koona, P., Dorn, S. 2005. Extract from *Tephrosia vogelii* for the protection of stored legume seed against damage by three bruchid species. *Ann. Appl. Biol.* 147:43-48.
- Koul, O., Multani, J. S., Singh, G., Wahab, S. 2002. Bioefficacy of toosendanin from *Melia duvia* (syn. *M. azedarach*) against gram pod borer, *Helicoverpa armigera* (Hubner). *Curr. Sci.* 83:187-1391.
- Kraemer, K. G. 1958. Compendio de la conservación de la madera. Ed. Santander. España. Pp. 526.
- Nathan S.S., Savitha G., George D.K., Narmadha A., Suganya L., Chung P.G. 2005. Efficacy of *Melia azedarach* L. extract on the malarial vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera:Culicidae). *Biores. Tech.* 97:1316-1323.
- Rodríguez Hernández, C. 1999. Avances en la Investigación. El paríso *Melia azedarach* (Meliaceae) como alternativa de manejo de plagas. Colegio de Posgraduados. Instituto de Fitosanidad. p 3 [http:// www.colpos.mx/ifit/entacar/avances/012.html](http://www.colpos.mx/ifit/entacar/avances/012.html).
- Roy, A. Saraf S. 2006. Limonoids: Overview of significant bioactive triterpenes distributed in plant kingdom

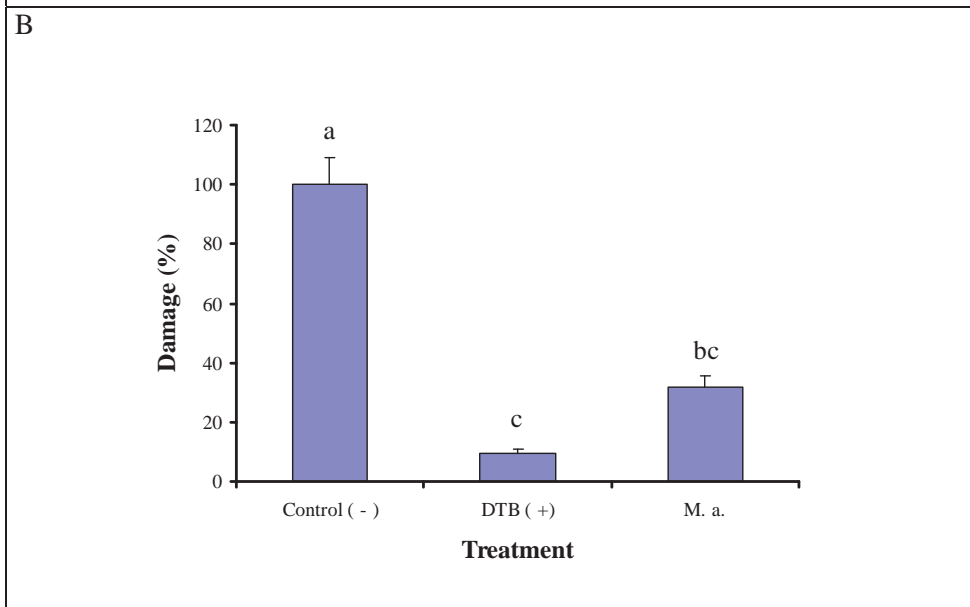
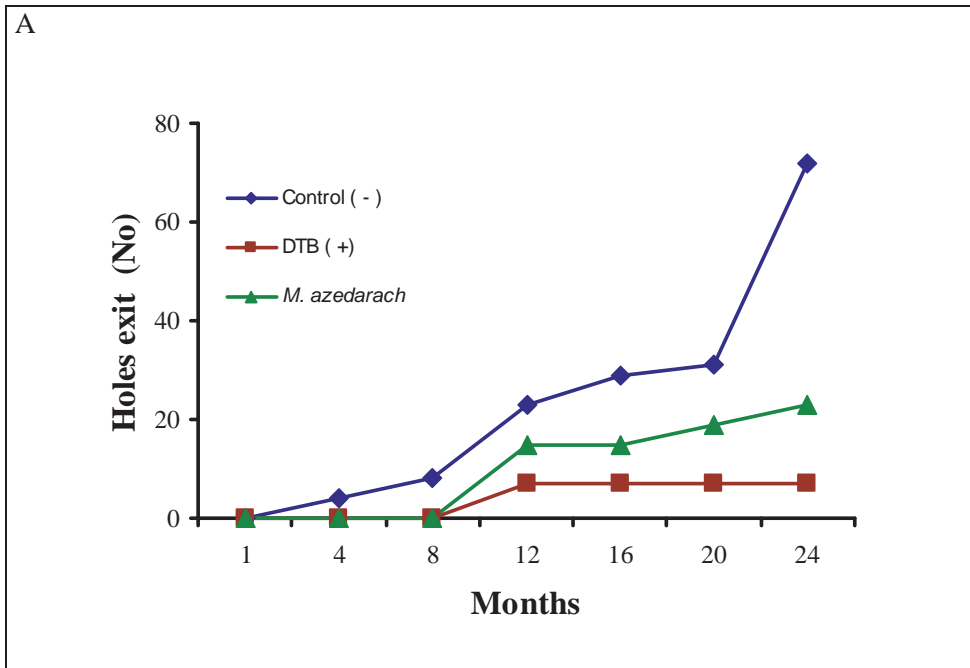
Vignote, P. S. y Jiménez Pérez, F. J. 1996. Tecnología de la madera. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, España 602 pp.



Cuadro 1. Retención y penetración de los componentes sólidos de un extracto acuoso de hojas de *M. azedarch* L. en los bloques de madera de encino (*Quercus laurina*)

Tratamiento de preservación	Penetration (mm)	Retención de sólidos (kg/cm <sup>3</sup> )
Control	0	0.00
Sales de Boro	7.1	12.8
Extracto acuoso de hoja	7	12

Figure 1. Protección de madera seca de *Quercus laurina* con un extracto acuoso de *Melia azedarach* contra *Lyctus planicollis*. A) Acumulación de orificios de salida en Madera seca de *Q. laurina*. B) Porcentaje de daño a la madera seca de encino después de 25 meses después del tratamiento de protección. U.C. control sin tratamiento (-□-); M.a. es extracto acuoso de hoja de *M. azedarach* (-◇-), DTB ( $\text{Na}_2\text{BH}_4$ ) control positivo (-▲-). Error estandar, Letras iguales significan que no hay diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) por la prueba de *t*-Student. n = 30.



#### 4. Efecto disuasivo de un extracto acuoso de *Enterolobium cyclocarpum*

##### Resumen

Para determinar el efecto disuasivo del extracto acuoso de *Enterolobium cyclocarpum* se realizaron consideraron tanto el efecto antialimentario como el de repelencia. El extracto se clasificó como un antialimentario de Clase III en la escala de Ohmura, ejerció un efecto antialimentario que fue clasificado coexperimentos de: uno, alimentación forzada con discos de madera de pino de 4.5 cm de diámetro por 0.6 mm de espesor y de volumen de 0.964 mm<sup>3</sup>. Se impregnaron con los tratamientos de solución de sales de boro, extracto acuoso de *Enterolobium cyclocarpum* a una concentración de de 0.2626 mg fenólicos totales equivalentes /ml, y los discos control impregnados con agua desionizada. Se colocaron 10 termitas de la especie *Incisitermes marginipennis* y se determinó la mortalidad, la sobrevivencia y la pérdida de peso de los discos durante 45 días. Otro experimento fue el de selección de alimento el cual consistió en discos de madera de pino fraccionados en tres partes una parte impregnada con solución de sales de boro, otra con extracto de *E. cyclocarpum* y el testigo con agua desionizada, se cuantificó la pérdida de peso de la madera de pino. Con los resultados al día nueve se calculó el Coeficiente Antialimentario y la determinación de la microbiota intestinal. El Coeficiente resultó de clase III en la escala de Ohmura *et al.*, 2000.

Se realizó el experimento de repelencia con discos de papel filtro impregnados con los tratamientos en la periferia del papel, se colocaron 25 termitas y se cuantificaron cada 10 min durante 100 min la ubicación de las termitas el resultado fue un repelencia del 98.68 con citronelol, 26.80 en el control y 64 % en el extracto de *E. cyclocarpum*.

El propósito de este trabajo fue determinar el efecto disuasivo del extracto de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb sobre termitas de madera seca *Incisitermes marginipennis*.

**Palabras clave:** Extracto acuoso, *Enterolobium cyclocarpum*, disuasivo, repelente

### **Introducción**

Se estima que anualmente, una tercera parte de la producción mundial de alimento y de productos almacenados es destruida por plagas resistentes que no han sido controladas por los plaguicidas convencionales, por lo que es imprescindible el estudio de nuevas alternativas de control de plagas (Bourguet 2000; Freemark 1995; Waterhouse 1996). Las plantas producen más de 100,000 metabolitos secundarios de bajo peso molecular normalmente no-esenciales para el proceso metabólico básico de la planta. Una consecuencia del proceso evolutivo que ha llevado a la selección de especies vegetales con mejores defensas contra el ataque microbiano o la depredación de insectos y animales (Dixon, 2001). Una estrategia química importante en la supervivencia de las plantas, que en los últimos años se ha reevaluando como la fuente inexplorada de plaguicidas amigables y seguros para el medio ambiente y la salud humana (Jacobson, 1989; Mansaray, 2000; Ottaway, 2001).

Un ejemplo de metabolitos aislados de plantas es la *rotenona*, un flavonoide insecticida que se extrae de las raíces de *Derris elliptica* y *Lonchocarpus utilis*, nativas del hemisferio oriental y del hemisferio occidental, respectivamente. La rotenona es un insecticida de contacto e ingestión y repelente. Su modo de acción implica la inhibición del transporte de electrones mitocondrial bloqueando la fosforilación del ADP a ATP. Los síntomas de intoxicación que presentan los insectos tratados con rotenona son: disminución del consumo de oxígeno, en la depresión de la respiración y ataxia, que

provocan convulsiones y conducen finalmente a la parálisis y muerte del insecto por paro respiratorio (Silva 2002).

Otro ejemplo son las *piretrinas* obtenidas de las flores de *Chrysanthemum cinaerifolium*, Fam. Compositae (nombre común piretro). Son seis ésteres con actividad insecticida, derivados de la piretrolona, la cinerolona, la jasmolona y de los ácidos crisantémico y pirétrico. Son compuestos que afectan tanto al sistema nervioso central como al periférico, son bloqueadores del transportadores de los iones de sodio que alteran la conductividad del ión en tránsito, inducen descargas eléctricas repetidas que al insecto le provocan convulsiones y la muerte. Poseen un marcado efecto irritante o "knock down", cuando el insecto entra en contacto con la superficie tratada con las piretrinas, le induce a que deje de alimentarse y repentinamente es aniquilado. Las piretrinas son el mejor ejemplo en la obtención de moléculas sintéticas y modificadas conocidas como piretroides (Silva, 2002).

Estos productos vegetales ampliamente usados con éxito, son una primera estrategia de aniquilamiento del insecto plaga, pero que también mata a insectos benéficos. Otra estrategia en el control de insectos plaga son los productos naturales con propiedades irritantes y desagradables que inducen en el insecto la acción de disuasión para acercarse (repelente) o para devorar al sustrato alimenticio (antialimentario). Una estrategia que no es letal para los insectos plaga o benéficos, ni para otros organismos del ecosistema. Esta es una posible explicación para entender la durabilidad y resistencia al biodeterioro de la madera del duramen de *E. cyclocarpum*, apreciada para la fabricación de muebles y que puede servir como un modelo de estudio para idear estrategias de protección de madera seca de baja durabilidad o perecedera, tal como la madera de *Pinus* spp o *Quercus* spp. Para probar esta hipótesis el objetivo de este

trabajo fue determinar la potencial acción disuasiva de un extracto acuoso de madera de duramen de *E. cyclocarpum* en la termita de madera seca *Incisitermes marginipennis*

### **Materiales y métodos**

Material biológico. Los insectos fueron identificados y mantenidos a resguardo en la Colección de insectos degradadores de madera seca de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. El material plagado con termitas *Incisitermes marginipennis* se obtuvo de tres localidades del Estado de Michoacán: Huandacareo (10° 59' 22'' latitud Norte y 101° 16' 31'' longitud Oeste y un altura sobre el nivel del mar de 1840 m), Uruapan (19° 22' 18'' latitud Norte y 102° 03' 19'' longitud oeste y una altura sobre el nivel del mar de 1634 m) y Morelia (19° 42' 16'' latitud Norte y 101° 11' 03'' longitud Oeste y a una altura sobre el nivel del mar de 1941. Se colectaron varias colonias de termitas con representantes de todas las castas (ninfas soldados y reproductores). Las termitas se mantuvieron en una cámara cerrada y oscura a una temperatura promedio de 25 °C y una humedad relativa ambiente durante un mes para su aclimatación antes de los ensayos biológicos.

Obtención del extracto acuoso. Los extractos se elaboraron de madera de duramen de *Enterolobium cyclocarpum* de un árbol recientemente talado. En cada extracción se colocaron 100 g de madera de duramen de parota molida y seleccionada en malla 20 en 1 litro de agua desionizada, calentada a 50 °C por 30 min. El extracto fue concentrado por liofilización hasta tener una concentración de fenólicos totales de 0.2626 mg/ml.

Se prepararon discos de madera de pino de diámetro de 4.6 cm y espesor de 0.58 mm, con un volumen de 0.9639 cm<sup>3</sup>. Los discos de madera de pino se pesaron y se impregnaron con: a) Agua desionizada como testigo negativo, b) Con disolución de sales de boro 5 % de ácido bórico equivalente (50 ml de agua desionizada se aplicaron 3.5 g de disodio tetraborato y 2.5 g de ácido bórico) y c) Extracto acuoso (0.2626

mg/ml). En todos los tratamientos la impregnación se realizó durante 36 horas, después de la impregnación se retiró el extracto excedente y los discos se dejaron secar hasta peso constante, por diferencias de peso se determinaron los sólidos que retuvo cada disco. Para los ensayos de selección del alimento se colocó una mitad de disco de madera con el tratamiento indicado y la otra mitad sin ningún tratamiento. En estas condiciones se hicieron las determinaciones del coeficiente antialimentario y la determinación de la microbiota intestinal.

Determinación del coeficiente antialimentario ( $T$ ) del extracto acuso de *E. cyclocarpum*. Se hicieron ensayos de alimentación forzada y de selección del alimento como lo describe Ohmura *et al.* (2000). Para los ensayos de alimentación forzada y de selección del alimento, se colocaron 10 termitas en cada caja de petri con los discos de madera de pino impregnados y con los no impregnados, se hicieron evaluaciones del consumo de madera midiendo la pérdida del peso de los discos de madera cada tres días por nueve días.

Determinación del coeficiente antialimentario de alimentación forzada ( $A$ ). Se hizo mediante la aproximación:  $(K - EE/K + EE)100 = A \%$ . Donde:  $A$  = Coeficiente antialimentario,  $KK$  = Pérdida de peso en el control,  $EE$  = Pérdida de peso en el tratado. Para la determinación del coeficiente antialimentario  $R$  en ensayos de selección de alimento se hizo mediante la expresión:  $(K - E/K + E)100 = R \%$ . Donde:  $R$  = Coeficiente antialimentario,  $K$  = Pérdida de peso en el control,  $E$  = Pérdida de peso en el tratado

Consideraciones para la determinación de la preferencia alimentaria según Ohmura *et al.*,(2000): Clase I ( $0 \geq T < 50$ ), Clase II ( $50 \geq T < 100$ ), Clase III ( $100 \leq T < 150$ ) y Clase IV ( $150 \geq T < 200$ ). El coeficiente antialimentario total ( $T$ ) es igual a:

$T = A + R$ . El máximo valor de  $T$  para un antialimentario eficaz es de 200.



Ensayo para determinar la microbiota intestinal de termitas *Incisitermes marginipennis* (Latreille). Las termitas se dejaron en ayuno por 24 horas, se hicieron cuatro grupos de diez termitas con los tratamientos de alimentación forzada descritos arriba. Las termitas se alimentaron por 5 h continuas a 23 °C temperatura, oscuridad y humedad ambiente. Se procedió a succionar el contenido intestinal de la termita por punción con aguja fina y se suspendió en un mililitro de solución salina 0.9 %, utilizando un asa calibrada de 0.001 ml, se estrió el contenido intestinal sobre una placa de agar Mueller Hinton contenido en cajas de petri. Se incubó por 24 horas en anaerobiosis a las 6, 8, 12, y 24 h se contaron las colonias (UFC) y se multiplicaron por 1000, se reportan como unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml).

La cuantificación de los protozoarios y espiroquetas se hizo en preparaciones frescas utilizando una cámara de Neubauer y un microscopio de contraste de fases y de campo claro. Se reporta como el número de microorganismos por mm<sup>3</sup>.

Ensayo de repelencia de termitas *Incisitermes marginipennis*. Se utilizaron discos de papel filtro Whatman No. 3 de 8.5 cm de diámetro en cajas petri y se impregnaron con: a) 1500 µl (15.75 mg mg/ml) de extracto de *E. cyclocarpum* y secado a temperatura ambiente, b) 1460 µl citronelol (23.5 mg/ml agua desionizada). Los tratamientos fueron aplicados en la periferia del papel a 1.5 cm de radio de la periferia al centro del papel. Adicionalmente a esto se colocaron discos de papel filtro sin tratamiento. Después se colocaron 25 ninfas de termitas en cada caja, cada 10 min durante 100 min se contaron las termitas en el centro del disco de papel contenido en la caja de petri y las ubicadas adyacentes a la pared de vidrio. En la racional de que las termitas tienden a sentir en su exoesqueleto la pared de vidrio de la caja de petri, los tratamientos con mayor efectividad repelen a las ninfas hacia el centro del papel y en los tratamientos con menor efectividad las ninfas se ubican en la periferia del papel y cerca de la pared de vidrio de

la caja de petri. Las cajas con las termitas permanecieron en una cámara oscura y solamente se destaparon para contar las ninfas en el centro y en la periferia y para tomar las fotografías. La repelencia se reporta como porcentaje de ninfas de termitas ubicadas en el centro de la caja petri.

Análisis químico del extracto acuoso de *E. cyclocarpum*. Los análisis se llevaron a cabo en un cromatógrafo de gases Agilent 6850 Series II, acoplado a un espectrómetro de masas Agilent MS detector 5973 y con una columna HP-5 MS (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu\text{m}$ ) bajo las siguientes condiciones: el gas acarreador fue Helio con una presión de 13.3 psi y flujo de columna de 1 ml/min, la temperatura inicial del horno fue de 150 °C por 3 min con incrementos de 5 °C/min, la temperatura final fue de 278 °C y se mantuvo por 5 min. Las temperaturas del inyector y de la línea de transferencia fueron de 270 y 300 °C, respectivamente. Los parámetros del espectrómetro de masas fueron las siguientes: presión de la fuente de 50 mTorr, voltaje del filamento de 70 eV y una velocidad de scanning de 1.9 scan/s. La identificación de los compuestos se realizó por comparación con los espectros de masas de la librería NIST Rev. D.04.00 2002.

**Análisis estadístico.** Todos los experimentos se hicieron con tres repeticiones independientes y por triplicado, la variabilidad de los datos se determinó por ANOVA-1 y la comparación de medias por prueba de Tukey con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ . Para la realización de los análisis se utilizó el paquete estadístico Statistica 7.

## **Resultados**

La retención de sólidos en los discos de madera de pino después del proceso de impregnación fueron, para el control humedecido con agua destilada y secado fue de 0.000 mg/cm<sup>3</sup>, para la disolución de sales de boro fue de 4.2 mg/cm<sup>3</sup> y para el extracto acuoso de *E. cyclocarpum* fue de 6.4 mg/cm<sup>3</sup> de sólidos (Cuadro 1).

Al inicio del tratamiento alimentario de no selección de alimento, la termita *I. marginipennis* devoró el papel impregnado con el extracto acuoso de *E. cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. o con las sales de boro para posteriormente dejar de hacerlo. En todos los tratamientos los discos de papel fueron devorados y perdieron peso. Los discos sin impregnar (control) tuvieron una pérdida de peso de la cual se tomó como el 100% de alimentación de la termita. Los datos de preferencia alimentaria obtenidos en los ensayos de no selección y selección de alimento se utilizaron para determinar el coeficiente antialimentario del extracto acuoso de *E. cyclocarpum*. En el Cuadro 2 que desde el día tres el extracto vegetal ( $6.4 \text{ mg/cm}^3$ ) tiene un coeficiente antialimentario grande y aumenta conforme pasa el tiempo, es mayor con respecto al coeficiente antialimentario determinado para las sales de boro ( $4.2 \text{ mg/cm}^3$ ) y el cual disminuye conforme pasa el tiempo.

Se midió la flora intestinal (bacterias, espiroquetas y protozoarios) de la termita *I. marginipennis* alimentada con celulosa impregnada con el extracto acuoso de *E. cyclocarpum*, sales de boro y en ayuno. La flora bacteriana intestinal de las termitas alimentadas con el extracto acuoso ( $6.4 \text{ mg/cm}^3$ ) fue de  $(63.81 \pm 15.37) \times 10^6$  UFC, mientras que en las termitas en ayuno fue de  $(23.0 \pm 5.47) \times 10^6$  UFC. La población bacteriana intestinal encontrada en las termitas alimentadas con sales de boro ( $42 \text{ mg/cm}^3$ ) fue de  $(40.57 \pm 10.66) \times 10^6$  UFC, mientras que en el control fue de  $(109.27 \pm 18.89) \times 10^6$  UFC. La presencia de las espiroquetas en el intestino de termitas tratadas con el extracto vegetal fue de  $19 \pm 3.59 \text{ mm}^3$ , en ayuno fue de  $20 \pm 4.15$ , con sales de boro fue de  $14 \pm 0.99 \text{ mm}^3$  y en el control fue de  $18 \pm 0.93 \text{ mm}^3$ . La población de protozoarios encontrados en el intestino de la termita tratada con el extracto acuoso fue de  $80 \pm 1.1$ , en el ayuno de  $71 \pm 6.75 \text{ mm}^3$ , con sales de boro 5 % fue de  $70 \pm 5.86 \text{ mm}^3$  (Cuadro 3).

En el cuadro 4 se presentan el efecto repelente del extracto de *E. cyclocarpum* sobre la termita *I. marginipennis*. La termita de manera natural tiende a estar en contacto estrecho con la pared de vidrio ubicándose preferentemente en la periferia de la caja de petri, desubicarlas de su sitio preferencial se tomó como un índice de repelencia. El tratamiento con citronelol (35 mg) aglomeró el 98% de las termitas en el centro, mientras que el extracto de *E. cyclocarpum* (15.75 mg) indujo al 64 % de las termitas ha separarse de la cercanía de la pared de vidrio y a ubicarse en el centro de la caja petri. En el grupo de termitas que no fueron sometidas ningún tratamiento, el 83.20% permanecieron reunidas en las cercanía de la pared de vidrio, mientras que el 16.80 % de las termitas se movieron libremente en el centro de la caja de petri.

En el extracto de *E. cyclocarpum* se determinaron por Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de masas los siguientes compuestos mayoritarios: el D-limoneno, el *p*-cimeno, butilato hidroxitolueno,  $\alpha$ -terpienol, cloroformo, *p*-cimeno-8-ol, fenol-4-metil, 1-exanol-2-etil, 2(3H)-furanona-5-etenildihidro-5-metil y Fenol (Cuadro 5).

## **Discusión**

A partir de la necesidad por encontrar una nueva alternativa natural para el control de insectos plagas y reemplazar así los pesticidas sintéticos aparecen los insecticidas botánicos ofreciendo seguridad para el medio ambiente y una eficiente opción agronómica. La mayoría de las especies de vegetales que se utilizan en la protección contra insectos muestran un efecto isectistático (Silva, *et al.*, 2002) mas que insecticida es decir inhiben el desarrollo normal de los insectos al actuar como repelentes, disuasivos de la alimentación u oviposición, confusores o disruptores y reguladores del crecimiento (Metcalf y Metcalf, 1992). Por lo tanto todas las plantas con efecto insectistatico son preventivas, los insectos después de una pequeña prueba dejan de

alimentarse y mueren por inanición o se irritan y se retiran. (Lagunes, 1994; Rodríguez, 1994). En consecuencia, el uso de plantas, en polvo o extractos para controlar insectos es una alternativa viable que debe ser investigada y validada con el rigor científico, algunas plantas son medicinales y otras son tóxicas y deben manejarse con las precauciones correspondientes, son de fácil acceso, lo cual constituye una importante ventaja especialmente para el productor de escasos recursos económicos. Además no dañan el medio ambiente y actúan sobre plagas blanco.

Muchas plantas son capaces de sintetizar metabolitos secundarios que poseen propiedades biológicas con importancia contra insectos plagas (Céspedes, 2001). La selección de plantas que contengan metabolitos secundarios capaces de ser utilizados como insecticidas naturales deben ser de fácil cultivo y con principios activos potentes, con alta estabilidad química y de óptima producción.

Retención de sólidos en la madera de pino.

La retención de sólidos del extracto y la disolución de sales de boro en los discos de madera de pino fue superior a lo reportado por COMACO para los tratamientos de Boro, extracto de *E. cyclocarpum* acuoso y filtrado. Valores que superan lo reportado por COMACO 1994, ( $3.2 \text{ mg/cm}^3$ ), para un riesgo de deterioro por insectos bajo.

Los tratamientos con boro y con *E. cyclocarpum* fueron los mejores tratamientos. En el tratamiento con agua desionizada (testigo negativo) la mortalidad fue la más baja debido a que no existieron compuestos que impidieran la alimentación de las termitas. En la alimentación de termitas se observa que en los tratamientos con boro y con extracto acuoso de *E. cyclocarpum* se alimentan en menor porcentaje que en los tratamientos con agua y con extracto de *E. cyclocarpum* filtrado. En las figuras D, E y F de los discos impregnados con boro se observan manchas de excremento líquido de las

termitas, lo que sugiere que el boro provoca un disturbio en la microbiota intestinal de termitas.

La calidad y cantidad de microorganismos intestinales es importante para la termita, esta simbiosis los microorganismos le ayudan a la termita en la digestión de su alimento predilecto, la celulosa que obtiene exclusivamente de la madera seca, por tanto, ellos son responsables de secretar enzimas hidrolíticas capaces de la descomposición de polímeros hasta sus componentes elementales, por ejemplo carbohidratos (glucosa), aminoácidos, ácidos grasos y nucleótidos. También son los proveedores factores bióticos como las vitaminas, o bien son responsables de fijar nitrógeno, reciclar fósforo, azufre y metales esenciales. Una razón fundamental para pensar que la microbiota de la termita es un blanco fisiológico potencial para el control de este insecto barrenador de madera seca. En el intestino de la termita *I. marginipennis* se encontraron bacterias, hongos y protozoarios, de los cuales se desconoce su taxonomía y no se encontró referencia alguna de la descripción de estos microorganismos extremófilos. Se observó que las espiroquetas como los protozoarios fueron difíciles de cultivarlos *in vitro*, que la única forma de medirlos fue en preparaciones frescas, no así algunas bacterias.

En el caso de la medición de los protozoarios y debido al desconocimiento de las especies presentes y la dificultad de cultivarlos *in vitro*, en este estudio se tomó el criterio arbitrario de agrupar a todos los protozoarios intestinales de la termita como protozoarios circulares. Se puntualizó en las espiroquetas por su forma característica y se midieron las bacterias como las unidades formadoras de colonias.

Se consideró que la población de bacterias, espiroquetas y protozoarios se afectó por la presencia del extracto acuoso cuando estuviese inusualmente baja o alta. Otros signos considerados fueron cuando la termita manifestara signos de daño tales como un

estómago disminuido o deposición de heces líquidas, ambos signos fueron observados pero no contabilizados.

Se encontró que los coeficientes antialimentarios ( $T$ ) del el extracto acuoso de *E. cyclocarpum* y las sales de Boro (control negativo) fueron de 121.82 (Clase III) y de 1.51 (Clase I). Estos datos sugieren que el extracto acuoso vegetal posee propiedades de un potente antialimentario según la clasificación de Ohmura y col. (2000). Por el contrario las sales de Boro poseen una débil influencia antialimentaria y el valor de  $T$  se ubica en la Clase I, es un insecticida por ingestión. Por lo anterior se puede concluir que el extracto de *E. cyclocarpum* tiene un efecto antialimentario

Los resultados nos indican que al ser comparadas protozoarios y las espiroqueas entre los diferentes tratamientos no existen diferencias significativas entre ellos, pero si se observó un cambio en las bacterias, por los que se concluye que el extracto acuoso de *E. cyclocarpum* (Jacq) Griseb no afectó severamente a la microbiota intestinal de *I. marginipennis* (Latreille). Estos datos también sugieren que la microbiota de la termita alimentada con extracto acuoso se comportó igual que la microbiota de la termita en ayuno, lo que refuerza la observación de que algún componente del extracto ejerce una acción antialimentaria en la termita.

La repelencia de termitas *Incisitermes marginipennis* con los tratamientos aplicados, las termitas se ubican en el centro o en la periferia de la caja por el efecto de los tratamientos en el caso del tratamiento con citronelol es evidente que las termitas se aglomeran en un círculo mas cerrado debido al compuesto que es un repelente activo y en el tratamiento con extracto de *Enterolobium cyclocarpum* la ubicación de las termitas es en toda el área libre de extracto y finalmente en el control sin tratamiento las termitas se dispersaron hacia las periferia y mostraron un efecto contrario a los tratamientos.

Los metabolitos naturales con propiedades repelentes o antialimentarios que pueden ayudar en el control de plagas de cultivos de importancia económica y en la preservación de varias clases de objetos de gran valor sin afectar seriamente al medio ambiente. Así, Watanabe *et al.* (2005) encontraron en la madera de duramen de pino ciprés (*Callitris glaucophylla* Thompson *et Johnson*), isómeros del (-) ácido citronélico, guaiol,  $\alpha$ -,  $\beta$ -, y  $\gamma$ -eudesmol con actividad repelente contra termitas subterráneas de la casta obrera de la especie *Coptotermes formosanus* Shiraki. Por otra parte Walcott (1953), encontró que el pinosylvin un compuesto extraído de duramen de pino, protegió la madera de baja durabilidad de *Delonix regia* (Bojer) Raf. También encontraron que el pinosylvin fue inicialmente tóxico para la termita *Criptotermes brevis* Walker y cuando perdió su toxicidad presentó una actividad repelente durante 565 días.

McDaniel (1992) obtuvo extractos del duramen de *Catalpa bignonioides* con propiedades repelentes para la termita *Reticulitermes flavipes*, encontró que los componentes repelentes fueron el catalponol que tuvo el mejor efecto sobre muestras de celulosa; mientras que el catalpalcton fue mejor cuando se aplicó a cubos de madera.

Las propiedades termicidas de los extractos del duramen del “machiche” *Lonchocarpus castilloi* Standley (Leguminosae) fueron investigadas por Reyes *et al.* (1995), ellos concluyeron que los flavonoides, Castilleno D y Castilleno E ejercieron un efecto antialimentario proporcional a la concentración aplicada y no mostraron un efecto tóxico contra la termita *C. brevis*.

Actividad antialimentaria de algunos flavonoides y compuestos relacionados contra la termita subterránea *Coptotermes formosanus* Shiraki fue examinada por Ohmura *et al.* 2000. realizaron pruebas de selección y no selección de alimentación. Todos los flavonoides probados mostraron actividad antialimentaria mientras que el ácido



catequínico el cual no posee anillo-A o anillo de piranosa mostró actividad de preferencia alimentaria.

Se hizo una búsqueda de información sobre estos compuestos en la literatura y se encontró que el compuesto mayoritario, el D-limoneno es un insecticida y repelente controla garrapatas, piojos y pulgas ( Mondragón, 2002), el *p*-cimeno es un insecticida y puede controlar larvas de mosquitos *Culex pipiens molestus* y el terpineol afecta huevesillos y adultos de *Mayetiola destructor* (mosca de Hess) (Arcila *et al* 2004), el butilato hidroxitolueno se usa como antioxidante y el 1-exanol-2-etil se ha usado como ingrediente en la formulación de insecticidas. (Dirección General de Normas, 1970).

Estos resultados sugieren que los componentes mayoritarios del extracto acuoso de madera de duramen ejercen una acción antialimentaria y de repelencia (disuasiva) en la termita de madera seca *I. marginipennis*. Adicionalmente estas observaciones explican que los extraíbles de *E. cyclocarpum* son un factor importante en la durabilidad de la madera de esta especie. Al respecto se llevan al cabo un estudio tendiente a probar esta hipótesis para saber cuales son los metabolitos secundarios responsables del efecto disuasivo.

## **Bibliografía**

Arcos Roa, J. 1999. Efecto del aceite de nim *Azadiracta indica* A. Juss., sobre la termita de madera seca *Incisitermes marginipennis* (Latreille) (Isoptera: Kalotermitidae). Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Texcoco, Estado de Mexico. 54 pp.

Bourguet, D., Genissel, A., Raymond, M., **2000**. J. Econ. Entomol. 93, 1588-1595.

Carter, F. L., Huffman, J. B. 1982. Termite responses to word and extracts of Melaleuca. Wood Sci. 14(3):127-133.

Céspedes, C. L.; Calderón, J. S.; Lina, L. and Aranda, E. Growth effects on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* of some limonoids isolated from *Cedrela spp.* (Meliaceae). *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 1903-1908.

COMACO, 1994. Manual de Construcción de Estructuras Ligeras de Madera. Ed. Consejo Nacional de la Madera en la Construcción A.C. México D.F. p 472.

NMX-F016-S-1979. Margarina para mesa. Normas Mexicanas. Dirección Gneral de Normas.

Dixon, R. *Nature*, 2001, 411, 843.

Freemark K., Boutin C., *Agriculture, Ecosystems and Environment* **1995**, *52*, 67-91.

Jacobson, M. Botanical Pesticides: Past, present and future. En *Insecticides of Plant Origin*. Arnason, J. T.; Philogene, B. J. R. y Morand, P. ACS Symposium Series 1989, 387. 1-10.

Mansaray, M. *Chem.* **2000**, 677-8.

McDaniel, C. A. 1992. Major antitermitic components of the Heartwood of Southern Catalpa. *Chem. Ecol.* 18(3):359-369.

Mopndragón Aguilar J. 2002. Insecticidas. ( En revision para publicación).

Ohmura, W., Doi, S., Aoyama, M. y Ohara, S. 2000. Antifeedant activity of flavonoids and related compounds against the subterranean termite *Coptotermes formosanus* Shiraki. *J. Wood Sci* 46:149-153.

Ottaway, P. B. *Chem.* **2001** 42-4 .

Reyes Chilpa, R. R., Viveros R. N., y Pérez Morales, V. 1994. Resistencia natural de trece maderas mexicanas al ataque de termitas subterranas. *Madera y Bosque*. Instituto de Ecología A. C. Xalapa, Ver. 1(1):39-47.

Silva, G., A. Lagunes, J. C. Rodríguez y D. Rodríguez.. Insecticidas vegetales; Una vieja-nueva alternativa en el control de plagas. Revista Manejo Integrado de Plagas (CATIE) **2002** (en prensa).

Walcott, G. N. 1953. Stilbene and comparable materials for dry-wood termite control. J. Econ. Entomol. 46(2):374-375.

Watanabe Y., Mihara R., Mitsunaga T., Yoshimura T. 2005. Termite repellent sesquiterpenoids from *Callitris glaucophylla* heartwood. Journal Wood Sci. 51:514-519.

Waterhouse D., Carman W.J., Schottenfeld D., Gridley G., MacLean S. *Cancer*, **1996**, 77, 763-770.

Cuadro 1. Retención de sólidos en la madera de pino impregnada con el extracto acuoso de *Enterolobium cyclocarpum* y sales de Boro.

TRATAMIENTOS	RETENCIÓN mg/cm <sup>3</sup>
Control	0.000±0.000
Extracto acuoso de <i>E. cyclocarpum</i>	6.4±0.0029
Sales de Boro	4.2±0.0011

Cuadro 2. Coeficiente antialimentario absoluto ( $T$ ) de un extracto acuoso de *Enterolobium cyclocarpum*.

DIAS DE TRATAMIENTO	COEFICIENTE ANTIALIMENTARIO ( $T$ )	
	<i>E. cyclocarpum</i> (64 mg/cm <sup>3</sup> )	Sales de boro (42 mg/cm <sup>3</sup> )
1	0	0
3	103.46	85.71
6	120.26	14.44
9	121.82	1.510

Cuadro 3. Efecto de un extracto acuoso de *Enterolobium cyclocarpum* sobre la microbiota intestinal de *Incisitermes marginipennis*.

CONDICIÓN ALIMENTARIA	SIMBIONTE		
	Bacterias (UFC·10 <sup>6</sup> )	Espiroquetas (0.0001 mm <sup>3</sup> )	Protozoarios (0.0001 mm <sup>3</sup> )
Control	109.3±18.9	18± 0.93	74± 6.62
Ayuno	23.0±5.47	20± 4.15	71± 6.75
Extracto acuoso (64 mg/cm <sup>3</sup> )	63.81±15.37	19± 3.59	80± 1.1
Sales de Boro (42 mg/ cm <sup>3</sup> )	40.57±10.66	14± 0.99	70± 5.86

Cuadro 4. Efecto repelente de un extracto acuoso de *E. cyclocarpum* sobre *I. marginipennis*.

TRATAMIENTOS	CITRONELOL (%)	CONTROL (%)	<i>E. cyclocarpum</i>
Termitas en el centro del papel	98.68±0.42	26.80±3.81	64.00±3.68
Termitas en la periferia del papel	1.32±0.42	73.20±3.81	36.00±3.68

Cuadro 5. Compuestos químicos semi-volátiles mayoritarios del extracto de *E. cyclocarpum*, determinados por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas

NO	TIEMPO EN (MIN)	AREA	NOMBRE DEL COMPUESTO	AREA (%)
1	6.538	23743244	D-limoneno	17.83
2	8.720	14548050	<i>p</i> -cimeno	10.92
3	33.848	9331503	Butilato hidroxitolueno	7.01
4	26.310	7459758	$\alpha$ -terpineol	5.60
5	3.201	6594089	Cloroformo	4.95
6	31.892	6442735	<i>p</i> -cimeno-8-ol	4.84
7	39.949	591462	Fenol, 4-metil	4.44
8	18.592	4537833	1-hexanol,2-etil	3.41
9	25.299	4497730	2(3H)-furanona,5 etenildihidro-5-metil	3.38
10	37.301	4153615	Fenol	3.12



## **5. Constituyentes químicos de un extracto acuoso de madera de duramen de *Enterolobium cyclocarpum***

### **Resumen**

Se obtuvo un rendimiento del 6.346 % (6.346 g) del extracto acuoso de madera de duramen de *E. cyclocarpum* con un contenido de Carbono y Nitrógeno Totales de 4.74 % y 0.018 %, respectivamente. Se detectaron los iones metálicos del Cobre y del Zinc. La detección de familias químicas por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas del extracto acuoso de *E. cyclocarpum* indicaron que las fracciones abundantes en orden creciente fueron sesquiterpenos, cetonas, alcanos, fenoles y monoterpenos. En el análisis por resonancia magnética nuclear se detectaron dos compuestos mayoritarios; un ciclitol, el pinitol y un diterpeno, el *13-epi-manool*.

**Palabras claves:** alcanos, cetonas, fenoles, *13-epi-manool*, monoterpenos, sesquiterpenos, pinitol

### **Introducción**

*Enterolobium cyclocarpum* una especie arbórea endémica de Centroamérica, que se encuentra distribuida desde México hasta el norte de Brasil. Desde el punto de vista químico se conoce que el follaje y las semillas en esta especie, contienen grandes cantidades de azúcares (galactosa, arabinosa, glucosa, rhamnosa y ácido glucurónico) (De Pinto y col. 1986, 1994; Serrato, 1989). De aminoácidos como treonina, lisina, leucina, valina, asparagina, glutamina, serina, histidina, glicina, arginina, alanina, tirosina, metionina, valina, fenilalanina, isoleucina, leucina, triptofano y ácido 2,3 diamino propiónico (Gmelin, 1959; Giral y Echegoyen, 1949; Massiu y Cravioto, 1950; Serratos Avalos, 2000). Proteínas como las albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas-1, todas ellas con un

excelente coeficiente de digestibilidad (Serratos Avalos, 2000). Tiene un gran contenido de ácidos grasos tales como el ác. lionoléico, ác. oléico, ác. palmítico y ác linolénico (Ezeagu, 1998). Posee cantidades importantes de Hierro, Calcio y Fósforo, aunque también se le detectó una cantidad apreciable de ác. ascórbico (Espejel y Martínez, 1979). Por esta composición química de *E. cyclocarpum* es apreciada como una especie de importancia agroforesteril.

Asimismo, de *E. cyclocarpum* se han aislado sustancias aglutinantes y emulsificantes con propiedades fisicoquímicas similares a la goma arábiga. Tienen una gran utilidad en las industrias de los alimentos, farmacéutica, litográfica y de adhesivos, en las que potencialmente pueden desplazar a la goma arábiga (Espejel y Martínez, 1979).

En México, ésta especie vegetal es subutilizada como un recurso agroforesteril, pero su madera es usada como una fuente combustible y especialmente es apreciada en la fabricación de muebles por su gran durabilidad natural y resistencia al biodeterioro atribuible a los metabolitos secundarios extraíbles que contiene. *E. cyclocarpum* es un recurso natural que posee otras propiedades utilizadas por los nativos de la región donde se propaga. A la goma que exuda el tronco del árbol se le ha encontrado un uso en la medicina tradicional, se utiliza para tratar la bronquitis, los resfriados y las hemorroides (González 1942; Mendieta y del Amor 1984; Brook 2000).

Tanto la gran durabilidad de la madera como las propiedades medicinales son características que han motivado la búsqueda de metabolitos secundarios con propiedades biocidas en esta especie. En el ámbito de la conservación de la madera seca de baja durabilidad contra el deterioro causado por microorganismos e insectos, con sustancias hidrosolubles e inocuas al medio ambiente obtenidas de maderas con una gran resistencia natural al biodeterioro, los metabolitos secundarios extraíbles de la madera de duramen de

*E. cyclocarpum* son candidatos ideales para la preservación de madera. Sin embargo, de esta especie vegetal se tiene escasa información química de los metabolitos secundarios extraíbles con propiedades biocidas y menos aun de los extraíbles hidrosolubles de la madera de duramen. Recientemente se reportó que un extracto acuoso obtenido de madera de duramen de *E. cyclocarpum* posee propiedades disuasivas y protegió madera seca de baja durabilidad obtenida de *Quercus* spp y *Pinus* spp, de los barrenadores de madera cosmopolitas mas desbastadores, *Lyctus* spp y la termita de madera seca *Incisitermes marginipenis* (Raya González y col. sometido a revisión). Por lo que el propósito del presente trabajo fue determinar la composición química fundamental, el contenido de metales, los metabolitos volátiles y semi volátiles, así como el metabolito mayoritario no volátil de un extracto acuoso de *E. cyclocarpum*.

#### **Material y métodos.**

Obtención del extracto acuoso de *E. cyclocarpum*. Los extractos vegetales de *E. cyclocarpum* se obtuvieron con madera de duramen de *E. cyclocarpum*, triturada en molino de cuchillas Thomas Scientific, el resultado de la molienda fue tamizado en malla de acero del número 20. Se colocaron 100 gr de polvo de madera en un vaso de precipitado con capacidad de 2 litros, se adicionaron 500 ml del solvente y se calentó hasta ebullición por 20 min. Se realizó el primer filtrado de la solución con ayuda de una manta previamente esterilizada, los sólidos recuperados se volvieron a extraer en las mismas condiciones, se obtuvo 1 litro del extracto acuoso. El filtrado se centrifugó por 10 min/10,000 rpm se concentró por medio de vacío y se almacenó en refrigeración hasta su uso. El extracto acuoso en polvo se resuspendió en 250 ml de agua desionizada.

Determinación de Carbono y Nitrógeno total del extracto de *E. cyclocarpum*.

La cantidad total de Carbono y Nitrógeno se hizo de acuerdo al método Dumas utilizando para ello un cromatógrafo de gases ThermoQuest, Flash 1112 EA con una línea regulada, se usó una mezcla de gases Helio y Oxígeno (2:1 v/v). La temperatura del horno de combustión fue de 900 °C y del horno de cuarzo de 680 °C. Se utilizaron lana de cuarzo (Pm 60.085), cobre reducido, catalizador de oxidación y perclorato de magnesio granulado obtenidos de Termo Quest Company. La cantidad de C y N se calculó con curvas estándar de suelo (Termo Quest Company) y atropina.

**Determinación cualitativa de la composición mineral** del extracto acuoso de *Enterolobium cyclocarpum* **por Espectrometría de Absorción Atómica de Flama**. Para la determinación de la composición mineral (Cu, Zn, Cd, Pb y Ni) del extracto vegetal se utilizó un espectrofotómetro de Flama Absorción Atómica Perkin Elmer, modelo PE-200. Se utilizó como blanco al agua tridestilada y una matriz blanco de dextrosa (0.5 g/l de agua tridestilada). Se utilizaron lámparas específicas para analizar cada uno de los metales, por ejemplo, para la determinación de Cu se utilizó una lámpara específica para la detección de Cu. Usando un nebulizador el blanco y las muestras fueron puestas en contacto con una flama producida con oxiacetileno. Con la lámpara apropiada, la óptica del instrumento se ajustó por medio del software del espectrofotómetro para seleccionar longitudes de onda monocromáticas que correspondieron a diferentes intervalos de detección. Para cada uno de los metales se sometieron a la detección por flama en el intervalo de concentración del ppm a 300 ppm debido a que no se conocía *a priori* el intervalo aproximado de la concentración de metales del extracto vegetal. Para cada longitud de onda el instrumento se ajustó la línea basal a cero usando el blanco. La matriz de interferencia se revisó usando la matriz del blanco, sin encontrar interferencia significativa pero un valor de absorbencia ligeramente diferente de cero en la fue registrado. Se registró el incremento en la longitud

de onda para cada una de las muestras y se hicieron cuatro réplicas por cada longitud de onda utilizada

**Determinación de compuestos volátiles y semi-volátiles del extracto acuoso de madera de duramen de *E. cyclocarpum* por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas del extracto acuoso de *E. cyclocarpum*.** Los análisis se llevaron a cabo en un cromatógrafo de gases Agilent 6850 Series II, acoplado a un espectrómetro de masas Agilent MS detector 5973 y con una columna HP-5 MS (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m) bajo las siguientes condiciones: el gas acarreador fue Helio con una presión de 13.3 psi y flujo de columna de 1 ml/min, la temperatura inicial del horno fue de 150 °C por 3 min con incrementos de 5 °C/min, la temperatura final fue de 278 °C y se mantuvo por 5 min. Las temperaturas del inyector y de la línea de transferencia fueron de 270 y 300 °C, respectivamente. Los parámetros del espectrómetro de masas fueron los siguientes: presión de la fuente de 50 mTorr, voltaje del filamento de 70 eV y una velocidad de escrutinio (scanning) de 1.9 scan/s. La identificación de los compuestos se realizó por comparación con los espectros de masas de la librería NIST Rev. D.04.00 2002.

**Análisis de Resonancia Magnética Nuclear del extracto acuoso de *E. cyclocarpum*.**

El análisis químico por técnicas de resonancia magnética nuclear se hizo en un espectrómetro de resonancia magnética nuclear Mercury 400BB. Los espectros fueron calibrados con Piridina- $d_5$ . El espectro de correlación (COSY) de Hidrógeno ( $^1\text{H}$ ) se hizo a temperatura ambiente, en un campo de 400 MHz. El decaimiento de relajación fue de 1 s, pulso de 46.1 grados, tiempo de adquisición de 3.6 s, amplitud de banda de 5998.8 Hz, con 256 repeticiones. El espectro de correlación (COSY) de Carbono ( $^{13}\text{C}$ ) se hizo a temperatura ambiente, en un campo de 100 MHz. El decaimiento de la relajación fue de 1 s,

a un pulso de 65 grados, tiempo de adquisición de datos de 1.199 s, amplitud del campo de 25000 Hz, con 29936 repeticiones, modulado a Waltz-16.

B) Óxido de deuterio (D<sub>2</sub>O) como disolvente. El espectro de Hidrógeno (<sup>1</sup>H) se hizo a temperatura ambiente en un campo de 400 MHz, a decaimiento de la relajación de 1 s, pulso de 65 grados, tiempo de adquisición de datos de 1.199 s. amplitud de 25000 Hz, a 35568 repeticiones, modulado a Waltz-16. El espectro de Carbono (<sup>13</sup>C) se hizo a temperatura ambiente, decaimiento de la relajación a 1 s, a pulsos de 65 grados, tiempo de adquisición de datos de 1.199 s, con 35568 repeticiones. La estructura química del compuesto fue determinada por comparación con espectros de resonancia magnética nuclear reportados en la literatura (Misra y Siddiqi 2004). COSY El experimento fue conformado con tiempo de adquisición de 0.153 s, con 16 repeticiones con 128 incrementos, transformados con 1024 X1024 puntos,

## **Resultados y Discusión**

### **1. Rendimiento**

El extracto acuoso obtenido de 100 g de polvo de madera de duramen de parota fue de 6.346 g de sólidos, representando un rendimiento del 6.346 %.

2. Composición elemental y mineral del extracto. Se determinó el contenido de Carbono y Nitrógeno Totales por el método de Dumas, y se encontró que el extracto acuoso contuvo un 4.74 % de C y 0.018 % de N.

Se hizo una determinación cualitativa de la composición mineral para conocer los elementos metálicos contenía el extracto acuso vegetal. Las concentraciones de Ni, Cd y Pb fueron menores que los límites detección del aparato. El promedio de absorbencias para Cu y Zn fueron mayores que los límites detección un indicador de la presencia de estos

elementos metálicos a un nivel máximo de  $6.06 \pm 0.064$  y  $7.00 \pm 1.410$  de absorbencias, lo cual representa escasas ppm ver el cuadro 1.

### 3. Composición de los metabolitos volátiles y semi volátiles

El análisis químico del extracto acuoso del duramen de *E. cyclocarpum* por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas mostró 66 señales que indican igual número de componentes metabólicos en el extracto acuoso ver la Fig 1. En el extracto acuoso de *E. cyclocarpum* las fracciones abundantes en orden creciente fueron sesquiterpenos, cetonas, alcanos, fenoles y monoterpenos, ver el Cuadro 2 y 3.

La madera de duramen de *E. cyclocarpum* es resistente al biodeterioro causado por hongos e insectos barrenadores y este trabajo reporta por primera vez la composición de los extraíbles acuosos de esta madera que son volátiles y semivolátiles y se contribuye al conocimiento de la fitoquímica de esta especie. Es posible que al conocer algún componente acuoso con actividad antitermita o antifúngica ayude a explicar la durabilidad de esta madera y a la vez hacer un modelo con el cual se puedan preservar maderas percederas o de baja durabilidad como las obtenidas de *Pinus* spp y *Quercus* spp. respectivamente. Dos maderas de gran consumo y que generalmente no reciben tratamiento contra el biodeterioro, previo a su uso industrial o doméstico.

Ya que se han reportado propiedades biocidas de extractos obtenidos de este árbol, se observó que extractos hexánicos de madera del duramen inducen un efecto tóxico a hongos que degradan madera (Rutiaga Quiñónez y col. 1995). Se reportó que la ingesta del follaje de la parota disminuyó la población de protozoarios ruminales y favorecieron el aumento de la presencia de hongos (Navas Camacho y col. 1993). Extractos obtenidos con pentano a partir de la madera demostraron ser tóxicos para la termita subterránea *Coptotermes formaseanus* Shiraki (Carter y col. 1975). Sin embargo, ninguno de los tres grupos de

investigación purificaron o indicaron él o los metabolitos responsables del efecto biocida. En estudios fitoquímicos utilizando los frutos y las hojas del árbol se aislaron saponinas triterpénicas con actividad ictiotóxica y bactericida (Domínguez y Franco 1979). Así como inhibidores de la tripsina, algunos glucósidos cianogénicos y saponinas con actividad biocida (Aguilar y Zolla 1982; Sotelo y col. 1978).

El follaje y los frutos de *E. cyclocarpum* son apreciados como una especie de importancia agroforesteril. Se conoce que contienen grandes cantidades de azúcares (De Pinto y col. 1994), aminoácidos, ác. 2,3 diamino propiónico y proteínas como las albúminas con un excelente coeficiente de digestibilidad (Serratos Avalos, 2001), ácidos grasos (Ezeagu y col. 1998) y cantidades importantes de minerales y de ác. ascórbico (Espejel y Martínez 1979).

#### 4. Detección del compuesto mayoritario no volátil.

El extracto acuoso se trató con EtOAc:MeOH (4:1 v/v). Se encontraron las siguientes señales características del D-pinitol; En su espectro de <sup>1</sup>HRMN, δ piridina- d<sub>5</sub>: 3.95,3H, S, Ome, 4.18, 1H, t, J=9.7Hz, H-1, 4.65, 1H, t, J=9.52 Hz, H-4, 7.74-4.85, 4H, sobrepuestos m, H-2, H-3, H-5 y H-6. En su <sup>13</sup>CRMN δ piridina- d<sub>5</sub>: 85.61 (C-1), 72.9 (C-2), 74.05 (C-3), 72.14 (C-4), 74.52 (c-5), 73.62 (C-6), 60.62 (Ome). El D-pinitol ha sido aislado de varias plantas y es conocido su efecto en la asimilación y movilización de glucosa (Narayanan y col. 1987; Numata y col. 1979). También se ha descrito un efecto insecticida causado por este ciclitol (Chaubal y col. 2005; Dreyer y col. 2005), el cual es aislado por primera vez de la madera de duramen de *Enterolobium cyclocarpum* (parota nombre local). Las señales características para el 13-epi-manool fueron; CDCl<sub>3</sub>.



### Conclusiones

Se observó que tanto en los componentes volátiles como en los no volátiles se encuentran metabolitos secundarios que potencialmente pueden ser los responsables del efecto disuasivo en la protección de la madera seca de *Pinus* spp y *Quercus* spp de los barrenadores de madera seca; *Incisitermes marginipennis*, *Lyctus planicollis* y *L. linearis*

### Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por los Fondos Mixtos del CONAYT y del Gobierno del Estado de Michoacán de Ocampo (MICHOACÁN-2005-C01-009) y por la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH-CIC2.1MMP-2004).

### Referencias

- Aguilar A. y Zolla C. 1982. Plantas tóxicas de México. Unidad de Investigación Biomédica en Medicina Tradicional y Herbolaria IMSS. Pag 46. México, D.F.
- Brook C. 2000. Selected plants of medicinal value in Costa Rica. University of New Hampshire. pp 1-4 . England.
- Carter LF, Beal RH, Bultman JD (1975) Extraction of antitermitic substances from 23 tropical hardwoods. Wood Science 8(1):406-410.
- Chaubal R, Pawar PV, Hebbalkar GD, Tungikar VB, Puranik VG, Deshpande NR (2005) Larvicidal activity of *Acacia nilotica* extracts and isolation of D-pinitol –A Bioactive carbohydrate. Chem Biodiv 2(5):684-688.
- De Pinto G., Ludovic C. 1986. Analytical study of the gum exudates from *Enterolobium cyclocarpum*. Act. Cient. Ven. 37:92-92.

De Pinto G., Martínez M., De Corredor A., Rivas C., Orlando E. 1994. Chemical and <sup>14</sup>C NMR studies of *Enterolobium cyclocarpum* gum and Hs degradation products. *Phytochemistry*, 7:1311-1315.

Domínguez A., Franco R. 1979. Plantas medicinales de México XXXV Estudio químico de la corteza y fruto del guanacastle o parota *Enterolobium cyclocarpum*. Jacq. una leguminosa. *Rev. Latinoam. Quim.* 10:46

Dreyer DL, Binder RG, Chan BG, Waiss Jr AC, Hartwing EE, Beland GL (2005) Pinitol a larval growth inhibitor for *Heliothis zea* in soybeans. *Cel Mol Life Sci* 35(9):1182-1183.

Espejel J. y Martínez E. 1979. El guanacaste. Inireb informa, Comunicado 33:1-6. Veracruz, Mex.

Ezeagu E., Petzke K., Lange E., Metges C. 1998. Fat content and fatty acid composition of oil extracted from select wild gathered tropical plant seed from Nigeria. *J. Am. Oil Chem Soc.* 75:1031-1035.

Giral D., y Echegoyen M. 1949. Determinaciones de treonina en alimentos mexicanos y en otros productos. *Ciencia* 9:300-302

Gmelin R., Strauss G., Hasenmaier G. 1959. A new aminoacid from mimosaceae. *Z. Physiol. Chem.* 314:28-32.

Gonzalez C. 1942. Estudio bioquímico de la parota (*Enterolobium cyclocarpum*). Tesis de la Escuela Nacional de Biología. Instituto Politécnico Nacional. Pp 1-90. México, D.F.

Massiu G., Guzmán J., Cravioto R. 1950. Contenido en aminoácidos indispensables en algunas semillas. *Ciencia*, 10:1424-1426

Mendieta R., Del Amor S. 1984. Catálogo de las plantas medicinales del Estado de Yucatán. pp 143. INIREB, CECSA, México.

- Misra L.N. Siddiqui S.A. 2004. Dhaincha (*Sesbania bisponosa*) leaves: A good source of antidiabetic (+)-pinitol. *Curr. Sci.* 78:107.
- Narayanan CR, Joshi DD, Majumdar AM, Dhekne VV (1987) Pinitol a new anti-diabetic compound from the leaves of *Bougainvillea spectabilis*. *Curr Sci* 56:139-140
- Navas-Camacho A., Cuesta A., Anzola H., León J. 1993. Effect of supplementation with a tree legume forage on rumen function. *Live. Res. Rur. Dev.* 5:1-13.
- Raya González, D., A. Flores García, M.M. Martínez Pacheco, J.G. Rutiaga Quiñones (sometido a revisión). Anti-termite activity of an aqueous extract from the heartwood of *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq) Griseb.
- Rosales M., Laredo M., Cuesta A., Anzola H., Hernández L. 1989. Use of tree foliages in the control of rumen protozoa. *Live. Res. Rur. Dev.* 1:78-84
- Rutiaga Quiñones, J.G., Windeisen E., Shumacher P. 1995. Antifungal activity of heartwood extracts from *Dalbergia granadillo* and *Enterolobium cyclocarpum*. *Halz als Rho und Werstoff.* 53:308-308
- Serratos Avalos, J.C. 2001. Aislamiento y caracterización de proteínas de las semillas maduras de *Enterolobium cyclocarpum* para su aprovechamiento alimenticio. Tesis doctoral. Universidad de Colima. Tecoman, Col. México
- Serratos J. 1989. Utilización de semillas de parota (*Enterolobium cyclocarpum*) para alimentación humana. Tesis de Maestría. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Ja. México.
- Sotelo A., Lopez H., Hernández M. Infante A., Cruz M. 1978. Inhibidores de tripsina y hemaglutinas en algunas leguminosas comestibles. *IMSS.* 9:1-15.
- Sotelo A., Lucas B., Uvalle A., Giral F. 1980. Chemical composition and toxic factors contents of sixteen leguminous seeds. *Quart D. Crude Drugs Res.* 18:9-16.

Cuadro 1. *Composición mineral relativa del extracto acuoso del duramen de Enterolobium cyclocarpum*

Elemento	Absorbencia Relativa al blanco de dextrosa
Cadmio	< límite de detección
Cobre	$6.06 \pm 0.064$
Niquel	< límite de detección
Plomo	< límite de detección
Zinc	$7.00 \pm 1.410$

Cuadro 2. *Porcentaje de los grupos químicos detectados en el extracto acuoso del duramen de Enterolobium cyclocarpum determinados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.*

Grupos químicos componentes	Abundancia relativa (%)
Ácidos carboxílicos	0.39
Alcanos	6.77
Alcoholes	4.17
Alquenos aromáticos	2.252
Aromáticos	4.26
Cetonas	6.55
Éteres aromáticos	2.51
Fenoles	18.7
Halogenuros aromáticos	1.103
Monoterpenos	46.49
Quinonas	0.74
Sesquiterpenos	5.82

Cuadro 3. Compuestos semivolátiles detectados por Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas en el extracto acuoso de madera de duramen de *Enterolobium cyclocarpum*.

Compound	Retention Time (min)	Area	Name Phenolic compounds	Relative abundance %
1	3.119	205610	alpha-pinene	0.15
2	3.201	6594089	chloroform	4.95
3	6.538	23743244	D-limonene	17.83
4	8.720	14548050	p-cymene	10.93
5	10.349	240573	brevicomín	0.18
6	12.242	1158784	5-hepten-2-one, 6-methyl	0.87
7	13.533	670732	tetradecane	0.50
8	15.362	535814	ethanol,2-butoxy-	0.40
9	15.690	2849927	styrene,3,5-dimethyl-	2.14
10	15.927	1395247	benzene,1,2-dichloro-	1.05
11	16.602	276338	dodecane,2,6,10-trimethyl-	0.21
12	17.061	198847	1-octen-3-ol	0.15
13	17.679	294974	trans linalool oxide	0.22
14	17.908	492260	acetic acid	0.37
15	18.062	2514731	pentadecane	1.89
16	18.592	4537833	1-hexanol,2-ethyl	3.41
17	20.859	587907	linalool	0.44
18	21.081	2245877	alpha-bergamotene	1.69
19	21.213	1441512	cryophyllene	1.08
20	21.911	1308160	(+) fenchol	0.98
21	22.000	1341750	aristolene	1.01
22	22.328	3661959	hexadecane	2.75
23	22.583	1321359	4-terpeneol	0.99
24	23.421	933900	2,5-dimethylhidroquinone	0.70
25	23.621	1449394	beta-damascone	1.09
26	23.845	678395	beta-terpineol	0.51
27	24.109	299478	menthol	0.22
28	24.494	700293	acetophenone	0.53
29	25.299	4497730	2(3H)-furanone,5-ethenyldihydro-5-methyl-	3.38
30	25.549	305883	pentadecane,2,6,10,14-tetramethyl-	0.23
31	25.601	270181	hexadecane,2,6,10,14-tetramethyl-	0.20
32	25.927	566958	trans-p-2,8-menthadien-1-ol	0.43
33	26.310	7459758	(-)-alpha-terpineol	5.60
34	26.756	2063576	beta-bisabolene	1.55
35	27.364	820809	naphthalene	0.62
36	27.608	399751	epizonarene	0.30
37	27.718	2533518	benzene,1,2-dimethoxy-	1.90
38	28.279	366966	carveol	0.28
39	28.935	898816	ethanone,1-(methylphenyl)-	0.68
40	29.594	687040	oxime-,methoxy-phenyl-	0.52
41	30.022	862517	octadecane	0.65
42	30.579	676075	3,4-dimethoxytoluene	0.51

Continuación del cuadro 3.

43	31.296	712883	naphthalene, 1-methyl	0.54
44	31.892	6442735	p-cymen-8-ol	4.84
45	32.332	2360955	phenol,2-methoxy-	1.77
46	33.045	478475	paeonal	0.36
47	33.848	9331503	butylated hydroxytoluene	7.01
48	33.998	535305	phenylethyl alcohol	0.40
49	35.063	729247	benzothiazole	0.55
50	35.522	797655	phenol,2-methoxy-4-mthyl	0.60
51	35.856	403407	1,2,3-trimethoxybenzene	0.30
52	36.010	280675	naphthalene,2,6-dimethyl-	0.21
53	36.726	623024	p-mentha-1(7),8(10)-dien-9-ol	0.47
54	37.301	4153615	phenol	3.12
55	37.468	467548	2,4-dimethylphenethyl alcohol	0.35
56	37.892	227117	phenol,4-ethyl-2metoxy-	0.17
57	39.727	591462	naphthalene,1,6,7-trimethyl-	0.44
58	39.949	6009199	phenol,4-methyl	4.51
59	40.097	86100	phenol, 2,6-dimethoxy-	0.06
60	42.145	260794	eugenol	0.20

## Indice de Figuras

*Figura 1. Cromatograma de los compuestos volátiles del extracto acuoso de madera de duramen de Enterolobium cyclocarpum (Jacq.) Griseb.*

*Figura 2 Señal espectral de  $^{13}\text{C}$ -RMN del pinitol a 400 MHz.*

*Figura 3. Señal espectral de  $^1\text{H}$ -RMN del pinitol a 400 MHz*

*Figura 4. Estructura química del pinitol y el 13-epi-manool ambos obtenidos del extracto acuoso del duramen de Enterolobium cyclocarpum. A) fue obtenido por infusión y B) fue obtenido por reflujo.*



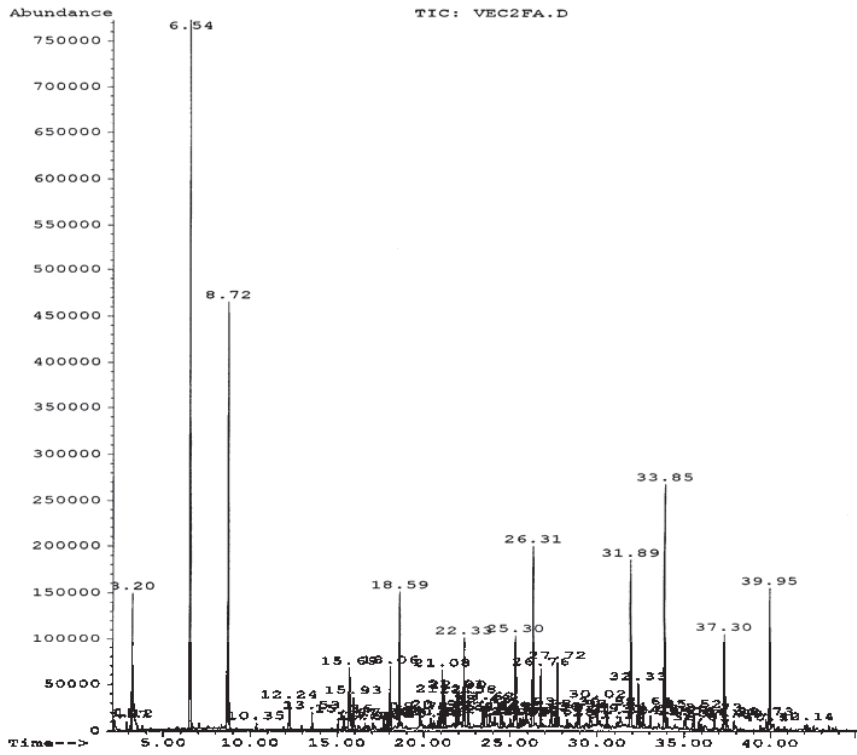
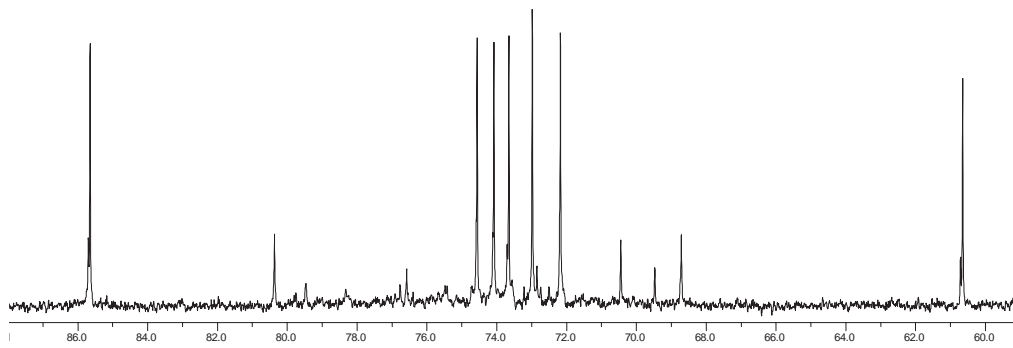
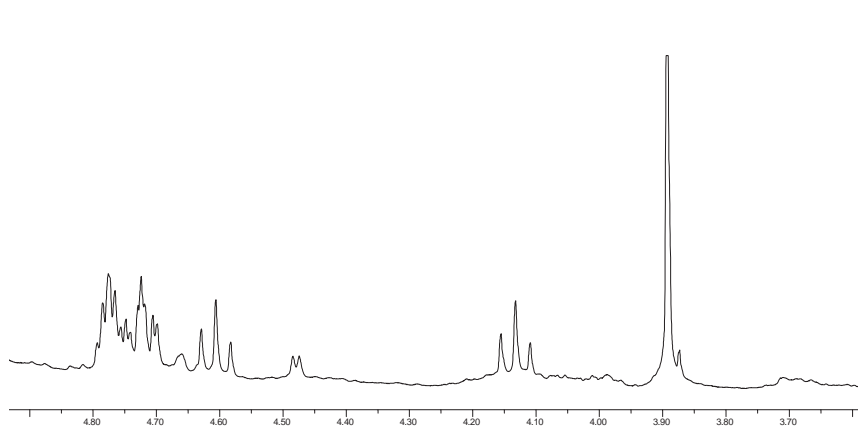


Figura 1.



*Figura 2*



*Figura 3*

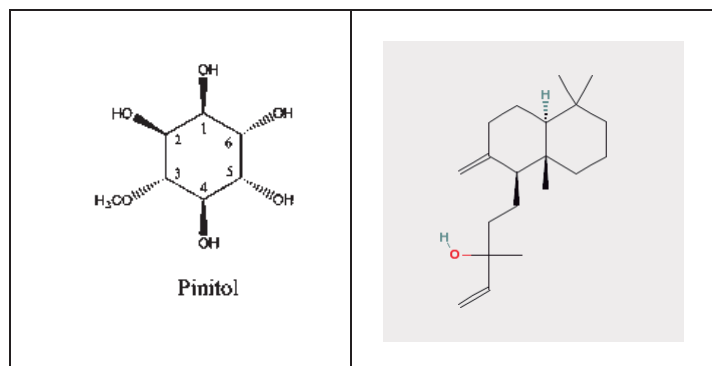


Figura 4.