

SINTESIS DE BAJO IMPACTO AMBIENTAL DE FLAVANONA Y SU EFECTO SOBRE *AULACORTHUM SOLANI* EN PLANTAS DE LECHUGA

Barberis, Florencia¹; Tocho, Erica^{1,*}; Tacaliti María S.^{1,*}; Margaría, Cecilia¹; Ricci, Mónica¹; Ruiz, Diego¹; Romanelli Gustavo^{1,2}

1 Centro de Investigación en Sanidad Vegetal (CISaV), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. Calle 60 y 119, CP 1900. La Plata, Bs. As., Argentina.

2 Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias Aplicadas "Dr. Jorge J. Ronco" (CINDECA-CONICET). Calle 47 N° 257, 1900, La Plata, Buenos Aires, Argentina

ericatocho@yahoo.com.ar; msilviatacaliti@yahoo.com.ar

<u>PALABRAS CLAVE</u>	<u>RESUMEN:</u>
Flavanona	En la horticultura la utilización de productos químicos constituye el principal método de control de plagas. En la búsqueda de compuestos que sean eficaces para el control de plagas, pero inocuos para el hombre y menos nocivo para el ambiente, se sintetizó a través de un procedimiento de bajo impacto ambiental y con excelente rendimiento, la molécula de flavanona por reacción de ciclodeshidratación de 2-hidroxichalcona empleando un catalizador de estructura Preyssler. Se evaluó la interacción planta-insecto, para medir el efecto de repelencia o atracción del compuesto sobre el pulgón de la papa y el efecto fitotóxico de la aplicación de flavanonas en plántulas de lechuga.
Repelencia	
Plantas de lechuga	
<i>Aulacorthum solani</i>	
Estructura de Preyssler	

LOW ENVIRONMENTAL IMPACT SYNTHESIS OF FLAVANONE AND ITS EFFECT ON *AULACORTHUM SOLANI* IN LETTUCE PLANTS

<u>KEYWORDS</u>	<u>ABSTRACT:</u>
Flavanone	In horticulture, the use of chemicals is the main pest control method. In the search of effective pest control compounds that are innocuous for humans and less harmful to the environment, the flavanone molecule was synthesized through a low environmental impact procedure with an excellent performance, by cyclodehydration reaction of 2-hydroxychalcone and using a catalyst of Preyssler structure. The plant-insect interaction was evaluated to measure the repellent or attraction effect of the flavanone compound on <i>Aulacorthum solani</i> . Moreover, the phytotoxic effect of flavanone applications was measured in lettuce seedlings.
Repellency	
Lettuce plants	
<i>Aulacorthum solani</i>	
Preyssler structure	

INTRODUCCIÓN

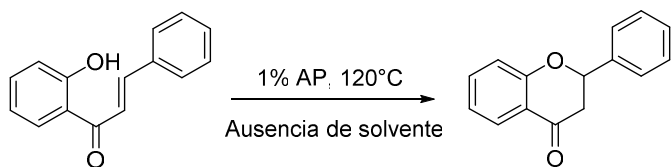
En Horticultura el control químico es el principal método para el control de plagas y conlleva a la aplicación de grandes cantidades de sustancias químicas nocivas para el ambiente. Para ello, se buscan compuestos que sean eficaces para la plaga que se quiere controlar, pero inocuos para el hombre y el ambiente, como una alternativa a la utilización de productos naturales, la Química Verde permite diseñar a través de procesos no contaminantes compuestos análogos en mayores volúmenes [1].

Entre los metabolitos secundarios, los flavonoides son un grupo diverso de compuestos presentes en las plantas que poseen diversas propiedades relevantes como la regulación de la oviposición de algunos insectos estimulando o evitando que ocurra y la alimentación (alterar la palatabilidad de las plantas, reducir su valor nutritivo, disminuir la digestibilidad o incluso actuar como tóxico). Además de su función protectora contra insectos herbívoros se relacionó a los flavonoides con la resistencia a patógenos, así como las interacciones simbióticas con

microorganismos (principalmente bacterias) e interacciones alelopáticas con otras plantas [2].

El pulgón de la papa, *Aulacorthum solani* se presenta de manera ocasional en el cultivo de lechuga, sin embargo, es una especie muy polífaga. Su carácter de plaga se debe a los daños directos provocados por su alimentación. Mediante su aparato bucal picador succionador, succionan el contenido celular e inyectan saliva tóxica provocando decoloraciones y deformaciones en zonas apicales de las hojas. Se reduce así el valor comercial del producto que impide su comercialización [3].

En el presente trabajo se informa un procedimiento de bajo impacto ambiental para la síntesis de flavanona en ausencia de solvente empleando un catalizador de estructura tipo Preyssler (Esquema 1). El compuesto fue empleado para evaluar la actividad como potencial plaguicida de áfidos en cultivo de lechuga. Para ello se determinó el efecto fitotóxico de la aplicación de flavanona en plantas de lechuga y en la interacción planta insecto mediante bioensayos de selección..



Esquema 1: Síntesis de flavanona

PARTE EXPERIMENTAL

General: los productos químicos utilizados fueron de grado analítico y empleados sin posterior purificación. El producto fue identificado por la determinación del punto de fusión del compuesto el cual fue determinado por el método del capilar y la caracterización espectroscópica se llevó a cabo por la determinación de los espectros de $^1\text{H-RMN}$ y $^{13}\text{C-RMN}$. Los resultados fueron similares a los reportados en la literatura [4].

Síntesis del sustrato de partida (2-Hidroxichalcona): se llevó a cabo a partir de acetofenona y belzaldehído empleando NaOH acuoso como catalizador, siguiendo el procedimiento descrito en la literatural [5]

Síntesis del catalizador (Ácido de Preyssler, H14[NaP5W29MoO110]): se siguió esencialmente un procedimiento descrito en la literatura [5].

Síntesis de flavanona: se mezclaron íntimamente 1 mmol de 2-hidroxiacetofenona con 1% mmol de ácido de AP. Se calentó a 110 °C durante 120 minutos; el grado de avance de la reacción se controló por CCD. Finalizada la reacción, se añadieron 5 ml de tolueno y se filtró en caliente para separar el catalizador; este se lavó con el mismo solvente (2x2 ml). La fase orgánica reunida se lavó con NaOH 3M (2x 5 ml) y luego con H₂O (2x5ml). Se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. Se obtuvo un sólido que fue purificado por cristalización en metanol, obteniéndose un rendimiento de 83 %. El catalizador recuperado fue secado en tambor desecador a vacío hasta peso constante.

Bioensayos: Se utilizó una población de áfidos replicada y mantenida en una cámara de cría en condiciones controladas (T° 15°C +/- 2; HR 70% y Fotoperíodo de 12:12 L: O), ubicada en la cátedra de Zoología Agrícola de la FCAyF. Los individuos fueron recolectados en cultivos de lechuga sin antecedentes de exposición a plaguicidas comerciales o en cultivos orgánicos, tanto en condiciones de campo como bajo cubierta, en diferentes establecimientos del Cinturón Hortícola Platense (CHP).

Para las disoluciones se usó la acetona que es un solvente polar, que pertenece al grupo de los COV (Compuestos Orgánicos Volátiles). El carácter volátil de éste disolvente hace que se evapore rápidamente al tomar contacto con el aire.

Se probaron concentraciones de 500, 400, 200 y 100 ppm, usando 1ml de acetona para 100 y 200 ppm y 2 ml para las concentraciones restantes llevando a un volumen final de 100 ml con agua destilada más 0,1% v/v de Tween 20 (agente tensioactivo). Se utilizaron dos tipos de controles, uno con agua destilada más Tween 20 y al otro control se le agregó además acetona.

Bioensayo de fitotoxicidad: Se evaluó el efecto fitotóxico de la flavanona sobre el crecimiento en plántulas de lechuga criolla, variedad gallega. En el estado de 4-5 hojas verdaderas se realizó la aplicación foliar con las distintas diluciones, mediante pulverización manual hasta el punto de chorreo. Se realizaron dos repeticiones por tratamiento de 10 plantas cada uno. A los 15 días de la aspersión se evaluaron visualmente síntomas de fitotoxicidad tales como enanismo, marchitamiento, clorosis, entre otros. Se determinó el contenido de clorofila (Ccl) con un medidor

automático SPAD-502 Minolta (Milton Keynes) en la última hoja de cada planta. Luego fueron cortadas por la base y secadas en estufa a 65° C durante 72 h para determinar el peso seco (PS).

Bioensayo de selección: Se basa en la libre elección de hospedero y permite que los insectos elijan entre un disco de lechuga tratado y su respectivo control. Se usaron discos de 2 cm de diámetro que fueron inmersos durante 10 segundos en las distintas soluciones de flavanona. Para evaluar el efecto del disolvente se contrastó un disco con acetona y el control con agua. Una vez secos, los discos fueron ubicados en cajas de Petri enfrentados sobre papel de filtro humedecido. En la parte opuesta fueron ubicadas diez hembras ápteras adultas. A las 24 y 48 h se contó el número de pulgones en cada disco y alrededores. Los datos fueron expresados como Índice de Repelencia= (tratados-control)/ (tratados+control)) que varía entre 1 correspondiendo al máximo de atracción, -1 el máximo de repelencia y 0 indistinto [6].

Los datos obtenidos fueron analizados con el programa STATISTICA versión 10 (2011), mediante Análisis de la Varianza (ANOVA). Con el propósito de determinar diferencias entre los valores promedios se aplicó la prueba de Tukey (P < 0,05). En los casos de incumplimiento de los supuestos del análisis de la varianza, se realizaron transformaciones con el fin de normalizar los datos y de homogeneizar la varianza del error.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis de la flavanona: se llevó a cabo mediante un procedimiento que incluye el uso de un catalizador sólido reciclable en reemplazo de catalizadores líquidos altamente corrosivos como el ácido sulfúrico y clorhídrico. Además, la reacción que incluye la ciclodeshidratación de 2-hidroxichalcona se llevó a cabo en ausencia de solvente (Esquema 1). Diferentes condiciones de reacción fueron chequeadas, las cuales incluyen el efecto de la temperatura, la cantidad de catalizador y el tiempo de reacción. Las condiciones óptimas de síntesis de flavanona se obtienen a 120 °C, en ausencia de solvente, empleando un 1% en milimol de AP, en un período de tiempo de 120 minutos. En tales condiciones la flavanona se obtiene con un rendimiento del 83 %, libre de productos secundarios. El catalizador utilizado puede recuperarse y reciclarse sin apreciable pérdida de la actividad catalítica. Se desarrolló un método catalítico sencillo para la preparación de flavanona por ciclodeshidratación de 2-hidroxichalcona en condiciones libres de disolvente. El procedimiento cuenta con un bajo impacto ambiental, alto rendimiento, alta selectividad, tiempos cortos de reacción y un catalizador que puede ser reutilizado directamente después de su separación.

Bioensayo de fitotoxicidad:

No se observaron visualmente síntomas de fitotoxicidad en las plantas tratadas con flavanona.

La determinación del Ccl realizado con el SPAD no dio diferencias significativas entre los tratamientos probados y el control. (F= 1,856; g.l=5; p= 0,107500). Esto indicaría que la flavanona no produce síntomas cloróticos manteniendo el verdor en las hojas. En tanto el PS tampoco se vio afectado por la presencia del compuesto estudiado (F= 1,4454; g.=5; p= 0,222451).

Los resultados encontrados evidencian que la flavanona no afecta el crecimiento y el desarrollo de las platas de lechuga.

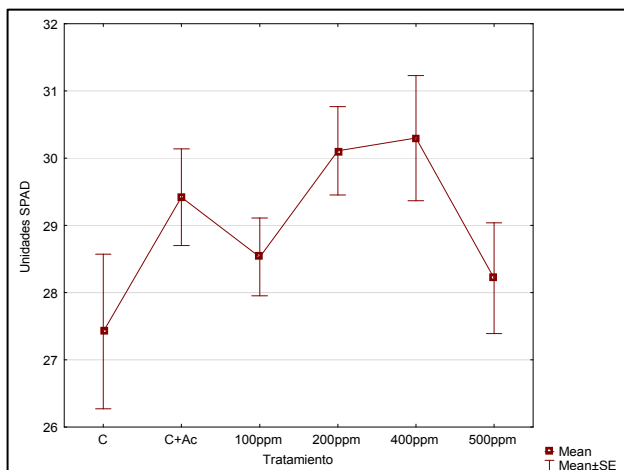


Figura 1 - Promedio del contenido de clorofila expresado en unidades SPAD, luego de 15 días de la aplicación de los tratamientos.

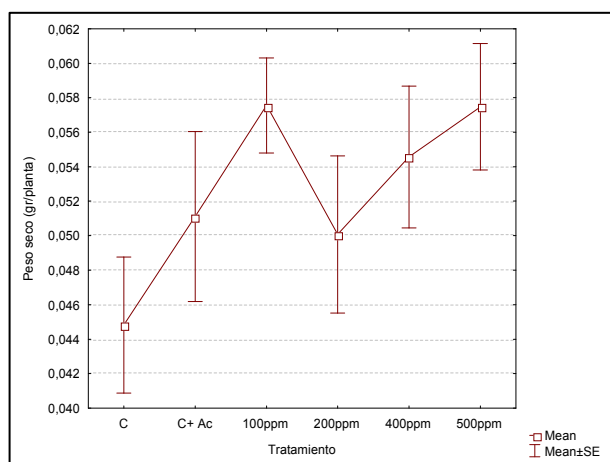


Figura 2 - Promedio del peso seco de las plantas de lechuga luego de 15 días de la aplicación de los tratamientos.

Bioensayo de selección:

El ensayo de repelencia no mostró diferencias significativas ($F=1,185937$; $g.l=4$ $p=0,347219$). Este ensayo no permitiría diferenciar el comportamiento de atracción o repelencia de la flavanona sobre el pulgón de la papa. El método de selección realizado en ambientes pequeños, cerrados y sin ventilación, como son las cajas de Petri, podría generar aromas o sustancias volátiles que distorsionan el comportamiento selectivo del insecto. Para evitar esto, podría utilizarse un recipiente de mayor tamaño y con ventilación, para que haya circulación de aire y las sustancias gaseosas producidas no permanezcan confinadas.

CONCLUSIONES

Se desarrolló un método catalítico sencillo para la preparación de flavanona por ciclodeshidratación de 2-hidroxicalcona en condiciones libres de disolvente. El procedimiento cuenta con un bajo impacto ambiental, alto rendimiento, alta selectividad, tiempos cortos de reacción y un catalizador que puede ser reutilizado directamente después de su separación.

A partir de este método se pudo obtener flavanona que demostró no provocar síntomas de fitotoxicidad en las plantas pero que por los bioensayos planteados no se pudo determinar su efecto repelente o atrayente sobre *Aulacorthum solani*. Otros métodos de selección serán probados con el mismo compuesto e insecto.

REFERENCIAS

- [1] P. T. Anastas, L. B. Bartlett, M. M. Kirchoff, T. C. Williamson. "The role of catalysis in the design, development, and implementation of green chemistry". *Catal. Today* 55, **2000**, 11-22.
- [2] J. Mierziak, K. Kostyn, A. Kulma. „Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment". *Molecules* 19, **2014**, 16240-16265.
- [3] S. Sola. "Pulgones grandes: Macrosiphumeuphorbiae y *Aulacorthumsolani*". *Revista Cajamar*, 12, **2015**. Disponible en: <https://www.cajamar.es/pdf/bd/agroalimentario/innovacion/investigacion/documentos-y-programas/012-pulgones-1446548205.pdf>. Último acceso: Diciembre de 2018.
- [3] P. Kulkarni, P. Wagh, P. Zubaidha. "An Improved and Eco-Friendly Method for the Synthesis of Flavanone by the Cyclization of 2'-Hydroxy Chalcone using Methane Sulphonic Acid as Catalyst". *Chem. J.* 2, **2012**, 106-110.
- [4] M. Attarde, A. Vora, A. Varghese, Y. Kachwala. "Synthesis and evaluation of chalcone derivatives for its alpha amylase inhibitory activity". *Organic Chemistry: An Indian Journal*, 10, **2014**, 192-204.
- [5] F.F. Bamoharram, M.M. Heravi, M. Roshani, M. Jahangir, A. Gharib. "Preyssler catalyst, [NaP5W30O110]14-: a green, efficient and reusable catalyst for esterification of salicylic acid with aliphatic and benzylic alcohols". *Appl. Catal. A Gen.* 302, **2006**, 42-47.
- [6] R.V. Alzogaray, A. Sfara, A. Moretti, E. Zerba. "Behavioural and toxicological responses of *Blattellagermanica* (Dictyoptera: Blattellidae) to monoterpenes" *Eur. J. Entomol.* 110, **2013**, 247-252.