

Ensayos sobre la actividad antialimentaria de extractos de *Melia azedarach* L. y *Mentha suaveolens* Ehrh. frente a los noctuidos plaga *Spodoptera littoralis* (Boisd.) y *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)

R. DEL TÍO, E. CANO, P. MARTÍN, J. L. RAMÍREZ y M. E. OCETE.

En este trabajo se ha evaluado la actividad antialimentaria, obteniendo el índice FR₅₀, de dos extractos vegetales: fruto de *Melia azedarach* L. y hojas de *Mentha suaveolens* L. Para el primero, el extractante utilizado fue éter de petróleo, mientras que para el segundo se usó etanol.

Las especies sobre las que se han llevado a cabo los ensayos han sido *Spodoptera littoralis* (Boisd.) y *Spodoptera exigua* (Hübner) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).

Los resultados muestran que ambos extractos presentan actividad antialimentaria, aunque con variaciones en los índices FR₅₀ dependiendo de la especie sobre la que se apliquen.

R. DEL TÍO, E. CANO, P. MARTÍN, J. L. RAMÍREZ y M. E. OCETE. Laboratorio de Zoología Aplicada. Dpto. de Fisiología y Biología Animal. Fac. de Biología. Univ. de Sevilla. Avda. Reina Mercedes, 6. 41012 SEVILLA.

Palabras clave: actividad antialimentaria, *Melia azedarach*, *Mentha suaveolens*, *Spodoptera littoralis*, *Spodoptera exigua*.

INTRODUCCIÓN

Investigaciones realizadas, fundamentalmente, a partir de la década de los sesenta, en el campo de la ecología química, han revelado que muchos de los metabolitos secundarios de las plantas juegan un importante papel en las relaciones planta-insecto (REESE, 1979), alguna de estas sustancias constituyen una barrera química de defensa para el vegetal frente a determinadas plagas y enfermedades. Con lo que la aplicación de extractos vegetales, purificados o en bruto, con carácter antialimentario se encuentra dentro del control integrado de plagas, o cuando menos en la agricultura biológica (VAN BEEK & DE GROOT, 1986; JERMY, 1990). De ahí, que hallamos emprendido la

búsqueda de determinadas especies vegetales presentes en Andalucía Occidental, que muestren bajos niveles de infestación por artrópodos, tales como *Melia azedarach* L. (*Meliaceae*) (Fig. 1), especie introducida abundante en parques, jardines y arboledas, y *Mentha suaveolens* Ehrh. (*Labiatae*) (Fig. 2), una herbácea silvestre frecuente en zonas húmedas.

La rosquilla negra, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera, Noctuidae), y la rosquilla verde, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae), son plagas polífagas, ampliamente distribuidas; este hecho, junto a la facilidad con que se pueden criar en insectarios, han hecho que sus larvas se hayan utilizado en multitud de bioensayos. *S. littoralis* constituye lo que podríamos lla-

mar una especie de referencia”, puesto de manifiesto en la amplia bibliografía existente (ASCHER et al., 1984; 1987; BELLES et al., 1985; PEREZ et al., 1992; PEREZ y OCETE, 1994).

El presente trabajo muestra los resultados obtenidos al evaluar en el laboratorio la actividad antialimentaria de *M. azedarach* y *M. suaveolens* al ser aplicados sobre los noctuidos anteriores, y se encuadra dentro de la línea que desarrolla nuestro grupo con el fin de incluir sustancias con este tipo de actividad en el control integrado de plagas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los frutos de *M. azedarach* utilizados para la realización del extracto se recogieron dentro de la ciudad de Sevilla (coordenadas UTM: 30STG3538) (Fig. 3). Los ejemplares de *M. suaveolens* se recolectaron en el término municipal de Zahara de la Sierra, Cádiz (coordenadas UTM: 30STF7779). El secado del material recolectado de ambas especies se realizó en una estufa con ventilación forzada a $70 \pm 1^\circ\text{C}$.

El extracto procedente de *M. suaveolens* se realizó a partir de hojas trituradas, mientras que para el de *M. azedarach* se tomaron frutos maduros y se trituraron empleándose en la realización del mismo tanto la envuelta carnosa como el hueso.

El disolvente utilizado para la extracción de los componentes polares de *M. suaveolens* fue etanol de 96° y para extraer los compuestos apolares de *M. azedarach* se usó como disolvente éter de petróleo (p.e. $50-70^\circ\text{C}$).

En *M. suaveolens*, terpenos como el α -pineno, campheno, β -pineno, limoneno y p-cimeno pueden llegar a representar el 26% de la composición de sus aceites esenciales (HOLEMAN et al., 1985).

En el caso del fruto de *M. azedarach*, se han conseguido aislar moléculas con capacidad antialimentaria como el tetranortriterpenoide 1-cinnamoylmelianolone (LEE et al., 1987), limonoides como ohchinolal y ohchi-



Fig. 1.-Ejemplar de *Melia azedarach* L.



Fig. 2.-Detalle de *Mentha suaveolens* Ehrh.



Fig. 3.—Fruto de *Melia azedarach* L.

nin (FUKUYAMA et al., 1983), o melianoninol, melianol, melianona, meliandiol, vanillin y ácido vanílico (HAN, et. al. 1991). Todo esto obviando los limonoides más conocidos de esta especie, las azadiractinas, y otras moléculas aisladas de otras partes de la planta, como la corteza de la raíz, que han dado buenos resultados como inhibidores de la alimentación en insectos (KRAVS et al., 1981; NAKATANI et al., 1985; HUANG et al., 1995).

En ambos casos, mediante la acción del rotavapor, se llevaron las muestras a sequedad para poder prefijar las concentraciones de las disoluciones que fueron ensayadas, aunque en el caso de *M. azedarach*, al utilizar éter como extractante, resulta un extracto oleico. A partir de ellas, y empleando acetona se obtuvieron las tres disoluciones, de cada extracto que fueron aplicadas (20, 30 y 40 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$).

En tests de selección, el sistema de valoración más idóneo es el uso de discos vegetales, como indican CHAPMAN & BERNAYS

(1989). Los discos vegetales utilizados fueron cortados mediante un sacabocados, eligiendo aquellas partes de la especie vegetal empleada, *Lactuca sativa* L., carentes de nerviaciones gruesas, tras haber lavado cuidadosamente las hojas, para evitar la posible interferencia de residuos de pesticidas.

De cada una de las tres disoluciones, obtenidas a partir de cada extracto, se tomaron 10 μl con una microjeringuilla, repartiéndose uniformemente por el haz de cuatro discos de lechuga (DT), de 1 cm^2 de superficie, que alternaban con otros cuatro de control (DC), sobre los que, análogamente, se extendió el mismo volumen de acetona, por ser el disolvente elegido para la preparación de las diferentes disoluciones al no dejar ningún tipo de residuo tras su evaporación. Cada grupo de ocho discos se encontraba dispuesto en el interior de una caja de petri, de 8,5 cm de diámetro.

Una vez evaporado el líquido extendido sobre los discos, en el centro de cada placa

fueron colocadas larvas L₄ de *S. littoralis* y *S. exigua* criadas en laboratorio, a razón de 5 y 10 individuos por caja respectivamente (Fig. 4). Para cada dosis, extracto y especie se realizaron 12 repeticiones.

Durante el desarrollo del test, se fueron midiendo las superficies consumidas de los DT y DC, cada media hora. Con los datos obtenidos se calculó el índice FR₅₀ (feeding ratio), de acuerdo con ANTONIOUS & SAITO (1981).

Las condiciones de los ensayos fueron: 25±1°C, 70±10% de Humedad Relativa y oscuridad total.

La representación gráfica de estos resultados queda reflejada en las figuras 5 a 8.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los Cuadros 1 y 2 aparecen reflejados los resultados obtenidos para cada una de las dosis empleadas de cada extracto.

El tiempo necesario para que se consumiese el 50% de las superficies de los discos control DC osciló entre 1 y 3 horas.



Fig. 4.—Sistema de valoración de discos vegetales.

Extracto etanólico de *Mentha suaveolens*

Presenta carácter antialimentario frente a las dos especies de lepidópteros ensayadas (FR₅₀<0,5), siendo más efectivo frente a *S. exigua*.

En ambos ensayos la efectividad es direc-

Cuadro 1.—Resultados para 12 repeticiones/dosis sobre *Spodoptera littoralis*.

Extracto	Dosis µg/cm ²	FR ₅₀ ± SEM
A. <i>Mentha suaveolens</i>	20	0,6224 ± 0,1008
	30	0,5766 ± 0,0881
	40	0,4586 ± 0,0672
B. <i>Melia azedarach</i>	20	0,1585 ± 0,0354
	30	0,1828 ± 0,0576
	40	0,0821 ± 0,0335

Cuadro 1.—Resultados para 12 repeticiones/dosis sobre *Spodoptera exigua*.

Extracto	Dosis µg/cm ²	FR ₅₀ ± SEM
A. <i>Mentha suaveolens</i>	20	0,4360 ± 0,0936
	30	0,3207 ± 0,0833
	40	0,2374 ± 0,0425
B. <i>Melia azedarach</i>	20	0,4032 ± 0,0705
	30	0,4561 ± 0,0790
	40	0,4264 ± 0,0610

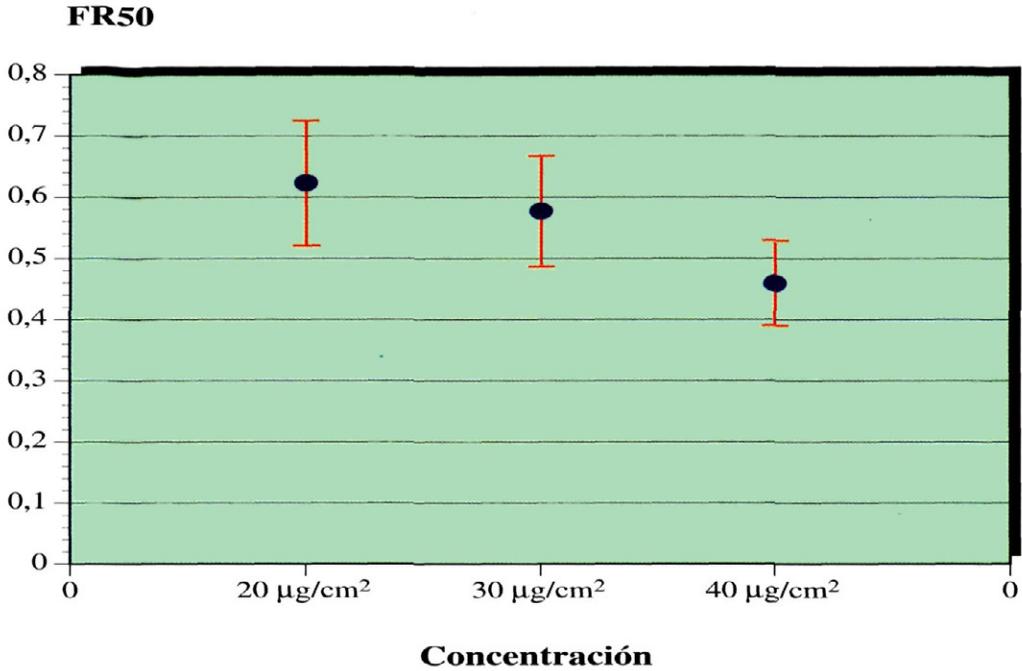


Fig. 5.-Índice FR50 obtenidos en ensayos con *S. littoralis* utilizando hojas de *Mentha suaveolens*.

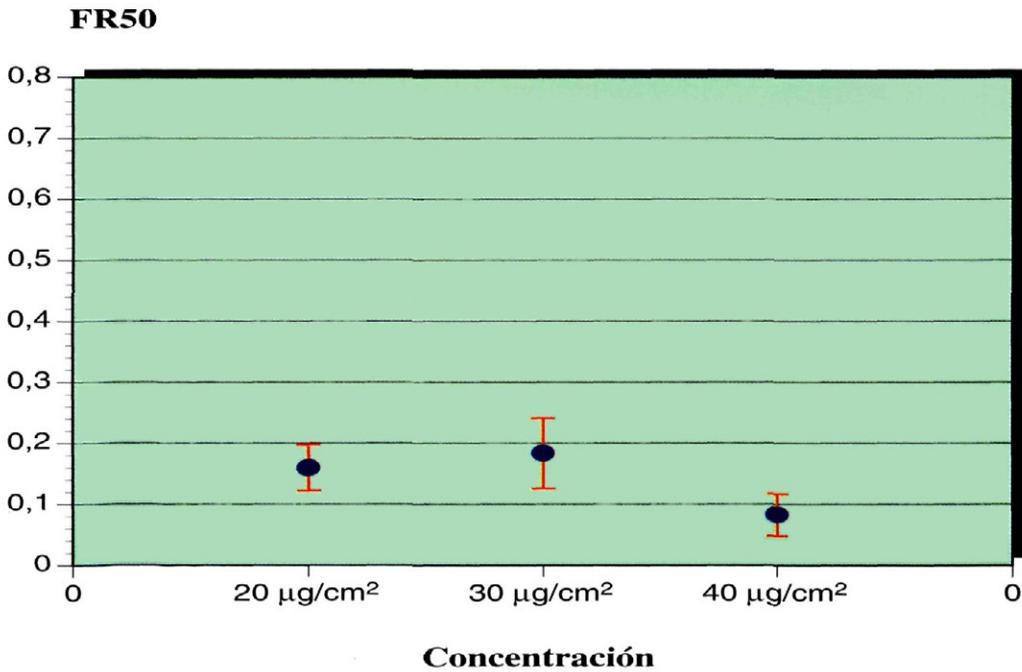


Fig. 6.-Índice FR50 obtenidos en ensayos con *S. littoralis* utilizando hojas de *Melia azedarach*.

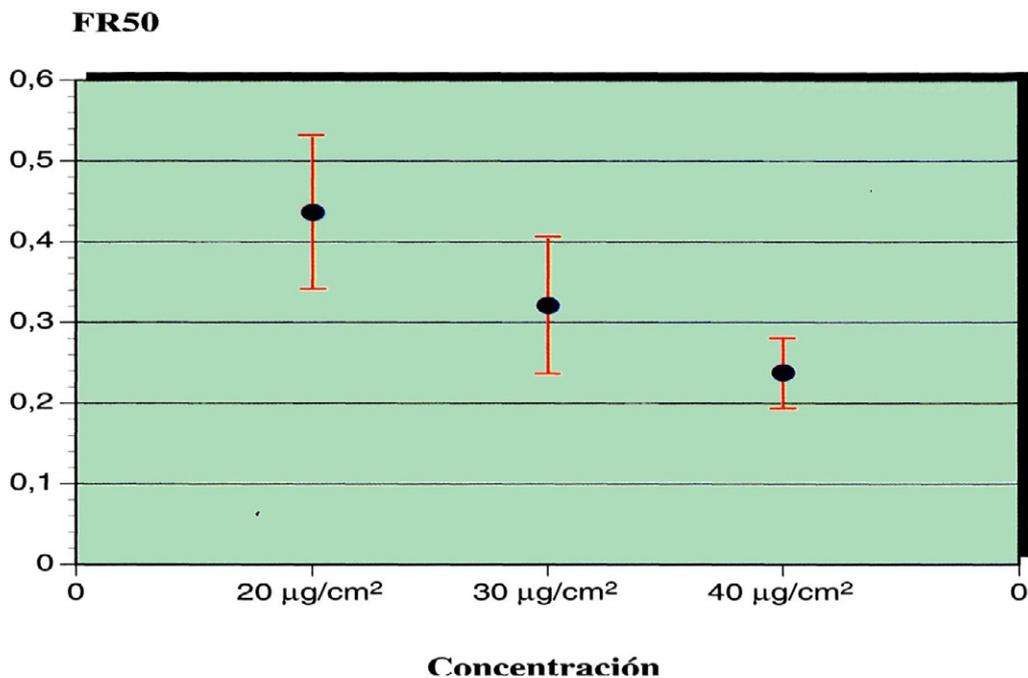


Fig. 7.-Índice FR50 obtenidos en ensayos con *S. exigua* utilizando hojas de *Mentha suaveolens*.

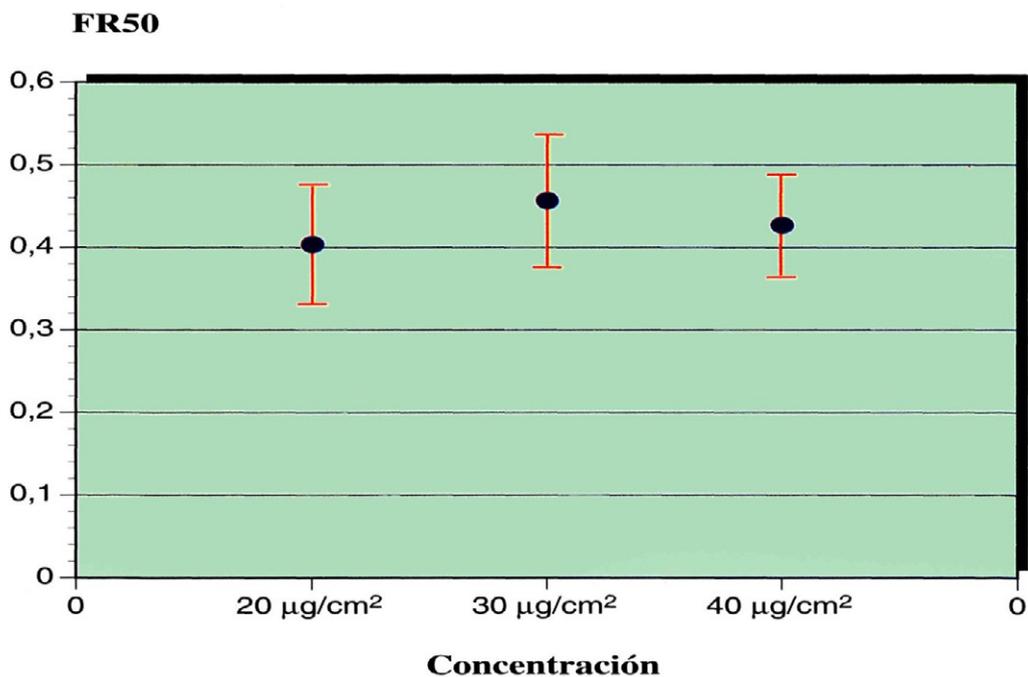


Fig. 8.-Índice FR50 obtenidos en ensayos con *S. exigua* utilizando hojas de *Melia azedarach*.

tamente proporcional a la concentración empleada. En el caso de *S. littoralis*, sólo la dosis de 40 µg/cm² es realmente efectiva (Fig. 5), mientras que para *S. exigua* las tres dosis ensayadas muestran una buena actividad fagorrepelente (Fig. 7).

En ningún caso se observa, a la dosis más baja utilizada, un efecto estimulante de la alimentación, como puede ocurrir con otras sustancias con actividad antialimentaria.

Extracto oleico de *Melia azedarach*

Presenta unos valores de FR₅₀ menores que los ensayados con *M. suaveolens* para *S. littoralis*, presentándose como un excelente producto con un fuerte efecto fagorrepelente, siendo los valores de FR₅₀ muy bajos (Fig. 6), llegando a producir casi la detención de la alimentación en esta especie a concentraciones de 40 µg/cm². Sobre *S. exigua* los efectos son ligeramente superiores, aunque siempre por debajo de 0,5 (Fig. 8).

De forma análoga a como ocurre con el extracto etanólico de *M. suaveolens* la menor concentración ensayada no posee actividad estimuladora de la alimentación.

MIKOLAJZAK & REED (1987) obtienen valores de FR₅₀ de 0,83 para un extracto con hexano sobre *S. frugiperda*. Los valores obtenidos en nuestros ensayos con *S.*

littoralis y *S. exigua* son menores, presentando el extracto obtenido una mayor actividad antialimentaria para estas dos especies, a la vez que se acercan a los resultados obtenidos por HUANG, *et. al.* (op. cit.) sobre *S. eridania* con limonoides aislados de la corteza de la raíz.

En ambos casos, los resultados obtenidos permiten abordar el aislamiento de los principios activos presentes en ambos extractos, así como emprender programas de ensayos en campo.

Es importante resaltar la necesidad de realizar este tipo de ensayos sobre diferentes insectos, puesto que la respuesta de cada especie puede ser diferente, como lo reafirman las experiencias realizadas, tanto en laboratorio como en campo, por HU, *et. al.* (1983) con aceite de semilla de *M. azedarach* aplicado a diversas especies plaga del arroz, en las que obtiene resultados que oscilan entre los que muestran que el extracto no tiene efecto hasta los que denotan actividad antialimentaria.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. R. Ocete Rubio, miembro de nuestro laboratorio, su orientación para la realización de este trabajo, así como la revisión y discusión de los resultados.

ABSTRACT

DEL TÍO R.; E. CANO, P. MARTÍN, J. L. RAMÍREZ Y M. E. OCETE, 1996: Ensayos sobre la actividad antialimentaria de extractos de *Melia azedarach* L. y *Mentha suaveolens* Ehrh. frente a los noctuidos plaga *Spodoptera littoralis* (Boisd.) y *Spodoptera exigua* (Hübner) (*Lepidoptera: Noctuidae*). *Bol. San. Veg. Plagas*, 22 (1): 133-140.

In this paper, the antifeedant activity of two vegetables extracts obtained from the fruit of *Melia azedarach* L. and leaves of *Mentha suaveolens*, has been evaluated with FR₅₀ index. The solvents used have been petroleum ether for *Melia azedarach* and ethanol for *Mentha suaveolens*.

Spodoptera littoralis (Boisd.) and *Spodoptera exigua* (Hübner) (*Lepidoptera: Noctuidae*). were the species used for the assays.

Results show that both extracts have antifeedant activity. On the other hand, the variability in the FR₅₀ indexes is depending on the specie of lepidoptera.

Key words: antifeedant activity, *Melia azedarach*, *Mentha suaveolens*, *Spodoptera littoralis*, *Spodoptera exigua*.

REFERENCIAS

- ANTONIOUS, A. G. & T. SAITO, 1981: Mode of action of antifeeding compounds in the larvae of the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* F. (Lep. Noctuidae). Antifeeding activities of chlordimeform and some plant diterpenes. *Appl. Ent. Zool.*, **16** (4) 328-334.
- ASCHER, K. R. S.; ELIYAHU, M.; GLOTTER, E.; GOLDMAN, A.; KIRSON, I.; ABRAHAM, A.; JACOBSON, M. & SCHMUTTERER, H., 1987. The antifeedant effect of some withanolides on tree insect species, *Spodoptera littoralis*, *Epilachna varivestis* and *Tribolium castaneum*. *Phytoparasitica*, **15** (1): 15-29.
- ASCHER, K. R. S.; ELIYAHU, M.; GLOTTER, E.; KIRSON, I.; ABRAHAM, A., 1984. Distribution of the chemotypes of *Withania somnifera* in some areas of Israel: feeding studies with *Spodoptera littoralis* larvae and chemical examination of withanolide content. *Phytoparasitica*, **12** (3-4): 147-155.
- BELLÉS, X.; F. CAMPS; J. COLL & M. D. PIULACHS, 1985. Insect antifeedant activity of clerodane against larvae of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera). *J. Chem. Ecol.*, **11**: 1439-1435.
- CHAPMAN, R. F. & BERNAYS, E. A., 1989. Insect behaviour at the leaf surface and learning as aspects of host plant selection. *Experientia*, **45**: 215-222.
- FUKUYAMA, Y.; MIURA, I. & OCHI, M., 1983. Limonoids from *Melia azedarach* L. var. *Japonica* Makino. VI. Bitter Limonoid from the Fruit of *Melia azedarach* L. var. *Japonica* Makino. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **56** (4): 1139-1142.
- HAN, J.; LIN, W. H.; XU, R. S.; WANG, W. L. & ZHAO, S. H., 1991. Chemical constituents of *Melia azedarach* L. *Yaoxue Xuebao*, **26** (6): 426-429.
- HOLEMAN, M.; BELLAKHDAR, J.; BERRADA, M.; ILDRISSI, A. & PINEL, R., 1985. Comparative chemical study of different populations of *Mentha suaveolens* Ehrh. from Morocco. *Actes Colloq. Int. Plant AROMAT. Med. Marocco*, 1st 1984: 191-196. J. Bellakhdar Ed.
- HU, J.; YANG, J.; CHEN, L., 1983. Preliminary study on the antifeedant and toxicity properties of chinaberry (*Melia azedarach* L.) seed oil against major insects pests of rice. *Zhongguo Nongye Kexue* (Beijing), **5**: 63-69.
- HUANG, R. C.; ZHOU, J. B.; SUENAGA, H.; TAKEZAKI, K.; TADERA, K. & NAKATANI, M., 1995. Insect antifeeding property of limonoids from Okinawan and Chinese *Melia azedarach* L., and from Chinese *Melia toosendan* (Meliaceae). *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59** (9): 1755-1757.
- JERMY, T., 1990. Prospects of antifeedant approach to pest control. A critical review. *J. Chem. Ecol.* **16**: 3151-3166.
- KRAVS, W.; CRANEER, R.; BOKEL, M. & SAWITZKI, G., 1981. New insect antifeedants from *Azadirachta indica* and *Melia azedarach*. *Pestic. Neem Tree*. Proc. Int. Neem Conf. 1st 1980: 53-62. H. Schmutterer, K.R.S. Ascher, H. Rembold Eds. Ger. Agency Tech. Coop.
- LEE, S. M.; KLOCKE, J. A.; BALANDRUM, M. F., 1987. The structure of 1-Cinnamoylmecanolanone, a new insecticidal tetranortriterpenoid, from *Melia azedarach* L. (Meliaceae). *Tetrahedron*, **28** (31): 3543-3546.
- MIKOLAJCZAK, K. L. & D. K. REED, 1987. Extractives of seeds of the Meliaceae: Effects on *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), *Acalymma vittatum* (F.), and *Artemia salina* Leach. *Journal of Chemical Ecology*, Vol. **13** (1): 99-111.
- NAKATANI, M.; TAKAO, H.; MIURA, I. & HASE, T., 1985. Azedarachol, a steroid ester antifeedant from *M. azedarach* var. *japonica*. *Phytochemist*, **24** (9): 1945-1948.
- PÉREZ, M. A. & R. OCETE, 1994. Actividad antialimentaria de extractos de *Daphne gnidium* L. y *Anagyris foetida* L. sobre *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**: 623-629.
- PÉREZ, M. A.; OCETE, R., y LARA, M., 1992. Ensayos sobre la actividad antialimentaria de un extracto etanólico de hojas de *Daphne gnidium* L. Frente a cuatro especies de insectos. *Bol. San. Veg.*, **18** (2): 435-440.
- REESE, J. C., 1979. *Herbivores. their interactions with secondary plant metabolites*, 303-330. G.A. Rosenthal & D. H. Anzen Eds., Academic Press, New York.
- VAN BEEK, T. A. & DE GROOT, A., 1986. Terpenoid antifeedants, part I. An overview of terpenoid antifeedants of natural origin. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, **105**: 513-527.

(Aceptado para su publicación: 12 febrero 1996).