

Actividad de extractos de semillas de *Trichilia havanensis* Jacq. sobre larvas de *Helicoverpa armigera* (Hübner)

J. F. LÓPEZ-OLGUÍN, M. C. DE LA TORRE, E. VIÑUELA y P. CASTAÑERA

Se ha evaluado, mediante ensayos de alimentación de preferencia y no-preferencia, la actividad de extractos acetónicos, etanólicos e hidro-etanólicos (a 5000 ppm) de pericarpio y semillas de *Trichilia havanensis* Jacq. (Meliaceae), frente a larvas del quinto estadio de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). El extracto acetónico de semillas, que mostró la máxima actividad antialimentaria, se cromatógrafió en columna de gel de sílice. Cinco de las siete fracciones obtenidas fueron identificadas como los limonoides: azadirona, *O*-acetiltrichilenona, 3,7-di-*O*-acetil-14,15-desoxihavanensina, 1,7-di-*O*-acetil-14,15-desoxihavanensina, y una mezcla de 1,7-di-*O*-acetilhavanensina y 3,7-di-*O*-acetilhavanensina (4:1).

La actividad de cada fracción se determinó a 1000 ppm, mediante ensayos de preferencia y no preferencia. La mezcla de 1,7-di-*O*-acetilhavanensina y 3,7-di-*O*-acetilhavanensina, mostró la máxima actividad. Asimismo, resultaron activos los limonoides azadirona y *O*-acetiltrichilenona. Las demás fracciones no mostraron actividad. Los resultados obtenidos con los índices de actividad sugieren un modo de acción semejante, probablemente tóxico, de estos limonoides contra larvas de *H. armigera*.

J. F. LÓPEZ-OLGUÍN y P. CASTAÑERA: Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Departamento de Biología de Plantas, Velázquez, 144. 28006 - Madrid.

M. C. DE LA TORRE: Instituto de Química Orgánica, CSIC, Juan de la Cierva, 3. 28006 - Madrid.

E. VIÑUELA: Unidad de Protección de Cultivos, E.T.S.I.A, Ciudad Universitaria s/n. 28040 - Madrid.

Palabras clave: Meliaceae, *Trichilia havanensis*, *Helicoverpa armigera*, actividad antialimentaria, limonoides, azadirona, trichilenona, havanensina.

INTRODUCCIÓN

La especie *Helicoverpa armigera* (Hübner) es un noctuido de gran importancia agrícola mundial, por su amplia distribución geográfica, por dañar preferentemente las flores, cápsulas, frutos o mazorcas de la planta y por el alto valor económico de los cultivos en los que constituye plaga. En España se encuentra distribuida en todas las regiones, especialmente en la vertiente mediterránea donde es plaga importante sobre maíz, algodón y tomate (BELDA, 1991).

La *Trichilia havanensis* Jacq. es un árbol de la familia de las meliáceas distribuido

por las regiones tropicales de México, Islas del Caribe, América Central, Colombia y Venezuela (PENNINGTON, 1981). Químicamente, las plantas de esta familia se caracterizan por contener gran cantidad de tetranortriterpenoides, habitualmente conocidos como limonoides (TAYLOR, 1981). Este grupo de compuestos ha despertado gran interés por su alta actividad sobre el comportamiento y la fisiología de diversas especies de insectos fitófagos (CHAMPAGNE *et al.*, 1992). Dos especies de la misma familia, *Azadirachta indica* A. Juss. y *Melia azedarach* L. son las más estudiadas debido fundamentalmente a que uno de los productos

mayoritarios extraído de sus frutos, la azadiractina, ha mostrado una alta actividad antialimentaria y como regulador del crecimiento contra muchas plagas (MORDUE y BLACKWELL, 1993). De los limonoides aislados del fruto de *T. havanensis* (CHAN *et al.*, 1973; ARENAS y RODRÍGUEZ, 1990), únicamente la azadirona obtenida originalmente de *A. indica* (LAVIE *et al.*, 1971), se ha citado con actividad antialimentaria contra *Epilachna varivestis* Mulsant (CHAMPAGNE *et al.*, 1992). No hemos encontrado referencias en la literatura científica de que se haya investigado la actividad biológica contra insectos, de los demás limonoides obtenidos de esta planta.

Por otra parte, se han realizado diversos estudios que han demostrado la efectividad de extractos acuosos de *T. havanensis* contra plagas agrícolas (LAGUNES, 1993). Recientemente, se ha observado que el fruto seco pulverizado de esta planta, incorporado a la dieta, ocasiona alta mortalidad, reducción significativa del peso y un marcado retraso del desarrollo larvario de *S. littoralis* (LÓPEZ-OLGUÍN *et al.*, 1997); Sin embargo, los compuestos responsables de esta actividad no han sido identificados.

Es evidente, por tanto, el gran interés que tienen los compuestos aislados de meliáceas para el desarrollo potencial de productos ambientalmente seguros y efectivos que puedan contribuir al control de plagas. El presente trabajo tiene por objeto aislar e identificar estructuralmente compuestos del fruto de *T. havanensis*, que muestren actividad antialimentaria frente a larvas de *H. armigera*, plaga de la mayor importancia agrícola mundial.

MATERIAL Y MÉTODOS

Insectos

Los ensayos se realizaron con larvas de *H. armigera*, procedentes de una población de campo mantenida en el laboratorio durante una generación. Las larvas se alimentaron

con la dieta semisintética desarrollada por POITOUT & BUES (1970), modificada con la adición de 0,63% (p/p) de la mezcla de sales minerales de Wesson. Los adultos se alimentaron con una solución al 10% de miel. Las larvas y adultos se mantuvieron en un insectario a una temperatura de 24 ± 2 °C, >70% de Humedad Relativa y un fotoperiodo de 16:8 horas (luz:oscuridad).

Material vegetal, extracción y fraccionamiento

Se recolectaron frutos en estado de madurez de *T. havanensis* y se dejaron secar a la sombra durante 15 días. El pericarpio fue separado de la semilla y ambas partes se pulverizaron en un molino (Culatti) usando un tamiz de 1,5 mm. El pericarpio y la semilla se sometieron de manera independiente a extracción continua durante 12 horas en un aparato Soxhlet, utilizando secuencialmente, acetona, etanol 96% y etanol-agua (80-20). Las seis soluciones resultantes fueron evaporadas en un rotavapor de vacío, obteniéndose los extractos correspondientes.

El extracto acetónico, que mostró la máxima actividad antialimentaria, se cromatografió en columna de gel de sílice (Merck 60 mesh, desactivada con un 10% de agua), utilizando como eluyentes n-hexano, mezclas de n-hexano:acetato de etilo y acetato de etilo puro. Las estructuras de los compuestos aislados de las diferentes fracciones cromatográficas se determinaron por comparación de sus espectros de ^1H -RMN con los datos bibliográficos.

Bioensayos

General

Los seis extractos y las siete fracciones obtenidos del extracto acetónico de las semillas de *T. Havanensis*, se aplicaron disueltos en su respectivo solvente a discos foliares de lechuga, a concentraciones (peso

del producto/peso fresco del disco foliar), de 5000 ppm en el caso de los extractos y a 1000 ppm para las fracciones (mezclas y compuestos puros). En todos los ensayos se incluyó el tratamiento testigo, consistente en aplicar a los discos foliares solamente el solvente utilizado para los productos de ensayo.

La unidad experimental para los ensayos de alimentación consistió en una placa Petri de plástico (15 × 90 mm), con el fondo cubierto por una capa de aproximadamente 20 ml de una solución de agar al 2,5% (ESCOUBAS *et al.*, 1993). Sobre la capa de agar se hicieron seis círculos usando un sacabocados N.º 17 (17 mm de diámetro), donde se colocaron seis discos foliares de lechuga (15 mm de diámetro), cada uno con su extracto o fracción. Una vez evaporado el solvente, dentro de cada placa se colocó una larva de quinto estadio de *H. armigera* de menos de 24 horas de edad, que se mantuvo en ayuno las 6 horas previas, y con un peso entre 250 y 300 mg. Cada placa Petri se consideró una repetición. En todos los ensayos se realizaron 10 repeticiones por tratamiento. Todas las placas del ensayo se colocaron completamente al azar dentro de una cámara de crecimiento a una temperatura de 26 ± 1 °C, >70% de humedad relativa y un fotoperíodo de 16:8 horas (luz:oscuridad).

Todos los datos de ingestión se determinaron en miligramos de disco(s) foliar(es) consumido(s), en peso seco, por cada larva. El peso seco inicial de los discos foliares se estimó, en cada ensayo, a partir de 10 grupos de 6 discos foliares con los que se obtuvo el factor de conversión de peso fresco a peso seco. Al final del ensayo, los discos foliares no consumidos se colocaron en una estufa a 60 °C durante 48 horas y se pesaron para obtener el peso seco final.

Evaluación de la actividad de las fracciones y compuestos puros

El efecto de las distintas sustancias sobre el comportamiento de alimentación de las

larvas de *H. armigera* se evaluó mediante ensayos de alimentación de corta duración y el cálculo de los índices de actividad correspondientes.

La posible actividad antialimentaria, que incluye tanto el modo de acción de no preferencia (antixenosis) como tóxico (antibiosis), de los extractos y de los productos purificados se evaluó mediante los bioensayos siguientes:

a) Ensayos de preferencia (puede elegir entre discos tratados y no tratados) para evaluar el grado de percepción de un compuesto por las larvas y su efecto disuasorio («deterrent») para la alimentación. Se colocaron alternadamente, dentro de cada placa Petri, seis discos foliares de lechuga. A tres de los discos se les aplicó, de forma homogénea, 12 µl de una solución conteniendo el producto de ensayo (discos tratados: Dt) y a los otros tres discos, se les aplicó únicamente 12 µl del solvente (discos control: Dc). Al mismo tiempo se prepararon las placas testigo, en las cuales se colocaron seis discos foliares a los que se aplicó únicamente el solvente. Este testigo adicional se utilizó para detener el ensayo cuando la ingestión media de las larvas era alrededor del 50% y para el cálculo del índice de supresión. El índice de disuasión (ID) se calculó mediante la ecuación:

$$ID = [(Dc - Dt)/(Dc + Dt)] \times 100$$

(SIMMONDS *et al.*, 1989). Donde: Dc = ingestión en discos testigo, Dt = ingestión en discos tratados.

b) Ensayos de no-preferencia para determinar el potencial de los compuestos para suprimir la actividad alimenticia (actividad «antifeedant») de un insecto en situaciones de no elección. Los ensayos de no-preferencia se realizaron tratando los seis discos foliares de cada placa con el producto de prueba (tratamiento) o con únicamente el solvente (placas testigo). El ensayo se dió por finalizado cuando las larvas habían ingerido el 75% de los discos foliares en las placas

testigo. El índice antiapetitivo (IA), se obtuvo de acuerdo con BENTLEY *et al.* (1984) mediante la ecuación:

$$IA = [(Dc - Dt)/Dc] \times 100.$$

Donde: Dc = ingestión en discos testigo, Dt = ingestión en discos tratados.

c) Paralelamente, mediante un análisis combinado de los datos de ingestión en los ensayos de preferencia y no-preferencia, se ha estimado el índice de supresión (IS) de la alimentación. Este índice permite valorar el efecto de inhibición de la alimentación que puede producirse en discos foliares no tratados como consecuencia de haber ingerido discos tratados (toxicidad aguda potencial) en placas con discos tratados y no tratados (ensayos de preferencia) cuando se compara con el consumo en las placas testigo de los ensayos de preferencia y no preferencia. Se calculó mediante la ecuación:

$$IS = [(IngTest.-IngTrat.)/IngTest.]*100$$

(RAFFA y FRAZIER, 1988). Donde: IngTrat. = ingestión en placas con discos tratados y no tratados (preferencia), IngTest. = Ingestión en las placas del testigo (preferencia/no-preferencia).

Análisis estadístico

En los ensayos de preferencia (ID), las diferencias entre el consumo de discos foliares de lechuga testigo y tratados se comprobaron mediante la prueba de Wilcoxon. En los bioensayos de no preferencia (IA) y preferencia/no preferencia (IS) las diferencias entre el consumo de discos foliares en las placas testigo y las tratadas se estimaron mediante la prueba de Dunnett.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La extracción de las semillas y del pericarpio de los frutos de *T. havanensis* dio lugar a los seis extractos crudos y a los rendimientos que se muestran en el Cuadro 1. Los índices de actividad antialimentaria de dichos extractos ponen de manifiesto la existencia de compuestos en el fruto de *T. havanensis* que afectan significativamente el comportamiento de alimentación de las larvas de *H. armigera* (Cuadro 2). Se observa una mayor variedad y concentración de compuestos activos en la semilla, puesto que los tres extractos ocasionaron una alta actividad antialimentaria, particularmente para los índices antiapetitivo y de supresión de la alimentación. Con respecto al pericarpio, únicamente el extracto acetónico

Cuadro 1.—Extractos crudos procedentes del fruto de *T. havanensis* y rendimiento de los mismos

| Extracto | Parte del fruto | Solvente | Peso (g)* | Rendimiento (%) |
|----------|-----------------|---------------------|-----------|-----------------|
| 1 | Semilla | Acetona | 19,70 | 23,79 |
| 2 | Pericarpio | Acetona | 33,20 | 21,16 |
| 3 | Semilla | Etanol 96% | 13,50 | 16,30 |
| 4 | Pericarpio | Etanol 96% | 16,30 | 10,39 |
| 5 | Semilla | Etanol-Agua (80:20) | 3,65 | 4,41 |
| 6 | Pericarpio | Etanol-Agua (80:20) | 5,90 | 3,76 |

* Obtenido a partir de 156,86 gramos de pericarpio y 82,8 gramos de semillas.

Cuadro 2.—Índices de actividad antialimentaria de seis extractos crudos del fruto de *T. havanensis* sobre larvas de *H. armigera*

| Extracto (5000 ppm) | IA (1) | ID (2) | IS (3) |
|---------------------|-------------|------------|-------------|
| PERICARPIO | | | |
| Acetona | 69,0 ± 2,5* | 17,8 ± 7,8 | 34,1 ± 5,2* |
| Etanol | -3,4 ± 6,2 | 1,3 ± 3,8 | -11,0 ± 3,2 |
| Etanol-Agua | -34,9 ± 2,8 | -4,6 ± 3,8 | -12,7 ± 4,3 |
| SEMILLA | | | |
| Acetona | 79,0 ± 2,6* | 25,5 ± 8,8 | 42,8 ± 6,2* |
| Etanol | 72,2 ± 2,9* | 14,5 ± 9,9 | 29,4 ± 5,8* |
| Etanol-Agua | 67,5 ± 4,6* | 7,4 ± 10,0 | 31,7 ± 6,5* |

(1) Índice antiapetitivo [(Dc-Dt)/Dc] × 100% ± error estándar (n = 10). * Indica diferencias significativas entre el consumo foliar en el control (Dc) y en los discos tratados (Dt) (test de Dunnett p ≤ 0,05).

(2) Índice de disuasión de la alimentación [(Dc-Dt)/(Dc+Dt)] × 100% ± error estándar (n = 10). * Indica diferencias significativas entre el consumo foliar en el control (Dc) y en los discos tratados (Dt) dentro de cada placa (test de Wilcoxon p ≤ 0,05).

(3) Índice de supresión de la alimentación [(IngTest.-IngTrat.)/IngTest.]*100 ± error estándar (n = 10). * Indica diferencias significativas entre el consumo foliar de discos tratados y no tratados en las placas tratadas (IngTrat) y en los controles (IngTest.) que contienen sólo discos no tratados (test de Dunnett p ≤ 0,05).

ocasionó alta actividad antialimentaria, con un índice antiapetitivo que no difiere del observado con los tres extractos de semillas de *T. havanensis*.

En base a que el extracto acetónico de semillas mostraba la máxima actividad antialimentaria (IA = 79,0%, IS = 42,8% e

ID = 25,5%), procedimos a su fraccionamiento, obteniéndose las siete fracciones y los rendimientos que se recogen en el Cuadro 3. De las diferentes fracciones cromatográficas se aislaron en orden creciente de polaridad, los limonoides: azadirona (I); *O*-acetiltrichilenona (II); 3,7-di-*O*-acetyl-

Cuadro 3.—Fraccionamiento del extracto acetónico de semillas de *T. havanensis* y rendimiento obtenido para cada fracción

| Fracción | Solvente | Compuesto (pureza) | Rendimiento* (%) |
|----------|----------------------|--|------------------|
| 1 | Hexano-EtOAc (80:20) | Mezcla no determinada | 4,72 |
| 2 | Hexano-EtOAc (80:20) | Azadirona (98%) | 9,06 |
| 3 | Hexano-EtOAc (80:20) | <i>O</i> -acetiltrichilenona (90%) | 2,33 |
| 4 | Hexano-EtOAc (80:20) | 3,7-di- <i>O</i> -acetyl-14,15-desoxihavanensina (95%) | 3,72 |
| 5 | Hexano-EtOAc (80:20) | Mezcla no determinada | 1,40 |
| 6 | Hexano-EtOAc (1:1) | 1,7-di- <i>O</i> -acetyl-14,15-desoxihavanensina (95%) | 37,20 |
| 7 | Hexano-EtOAc (1:1) | 1,7-di- <i>O</i> -acetylhavanensina + 3,7-di- <i>O</i> -acetylhavanensina (prop. 4:1) (95 %) | 7,37 |

* Obtenido de 18 g de extracto.

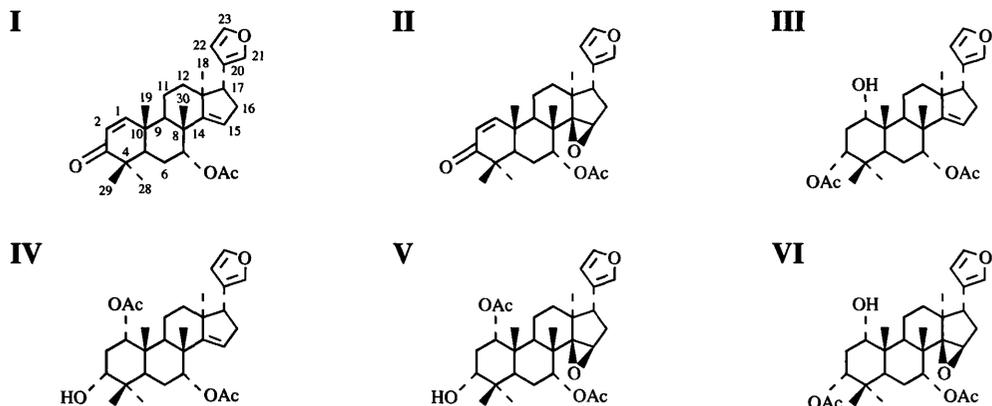


Fig. 1.—Estructuras de los limonoides: azadirona (I); *O*-acetiltrichilenona (II); 3,7-di-*O*-acetil-14,15-desoxihavanensina (III); 1,7-di-*O*-acetil-14,15-desoxihavanensina (IV); 1,7-di-*O*-acetilhavanensina (V) y 3,7-di-*O*-acetilhavanensina (VI) aislados del extracto acetónico de semillas de *Trichilia havanensis*.

Cuadro 4.—Actividad de siete fracciones de un extracto acetónico de semillas de *T. havanensis* sobre larvas de *H. armigera*

| Fracción* (1000 ppm) | IA (1) | ID (2) | IS (3) |
|---|-------------|-------------|-------------|
| Mezcla no determinada | 17,6 ± 2,2* | 4,4 ± 2,6 | 22,9 ± 3,1* |
| Azadirona | 32,3 ± 1,9* | 3,1 ± 4,0 | 45,3 ± 2,5* |
| <i>O</i> -acetiltrichilenona | 39,3 ± 1,9* | -2,8 ± 4,1 | 47,8 ± 2,5* |
| 3,7-di- <i>O</i> -acetil-14,15-desoxihavanensina | 7,1 ± 2,5 | 5,8 ± 2,9 | 5,6 ± 5,0 |
| Mezcla no determinada | 25,9 ± 2,7* | 2,5 ± 3,5 | 4,0 ± 2,4 |
| 1,7-di- <i>O</i> -acetil-14,15-desoxihavanensina | 7,8 ± 2,1 | 6,0 ± 5,4 | 9,0 ± 4,6 |
| 1,7-di- <i>O</i> -acetilhavanensina ± 3,7-di- <i>O</i> -acetilhavanensina (4:1) | 52,4 ± 2,6* | 29,0 ± 2,9* | 34,1 ± 3,9* |

(1) Índice antiapetitivo (Id. Cuadro 2).

(2) Índice de disuasión (Id. Cuadro 2).

(3) Índice de supresión (Id. Cuadro 2).

14,15-desoxihavanensina (III) y 1,7-di-*O*-acetil-14,15-desoxihavanensina (IV), cuyas estructuras se representan en la Figura 1. Estos limonoides coinciden con los aislados anteriormente del fruto de *T. havanensis* (CHAN *et al.*, 1973; Arenas y Rodríguez-Hann, 1990). Aunque, únicamente la azadirona, obtenida originalmente de *A. indica* (LAVIE *et al.*, 1971), se ha informado que muestre actividad antialimentaria con-

tra *Epilachna varivestis* (CHAMPAGNE *et al.*, 1992). Las otras tres fracciones resultaron mezclas, de las cuales únicamente la de mayor polaridad (fracción 7), fue de interés por sus resultados en los ensayos de actividad antialimentaria. El estudio de la composición de esta mezcla reveló la presencia de los limonoides 1,7-di-*O*-acetilhavanensina y 3,7-di-*O*-acetilhavanensina (V y VI respectivamente, en proporción 4 : 1),

identificados originalmente por CHAN *et al.* (1973).

La actividad de las siete fracciones del extracto acetónico frente a larvas de *H. armigera* se determinó a 1000 ppm, mediante ensayos de preferencia y no preferencia (Cuadro 4). La mezcla de 1,7-di-*O*-acetilhavanensina y 3,7-di-*O*-acetilhavanensina, mostró la máxima actividad antiapetitiva, y fue la única que mostró un índice de disuasión de la alimentación significativamente distinto de los testigos. Así mismo, los limonoides azadirona y *O*-acetiltrichilenona acetato mostraron diferencias significativas con sus testigos en sus índices antiapetitivos y de supresión de la alimentación, pero no en el índice de disuasión. Los altos índices de actividad antiapetitiva en condiciones de no-preferencia (IA) y de preferencia/no-preferencia (IS), combinados con un bajo índice de disuasión para alimentarse de discos tratados en condiciones de preferencia (baja capacidad de discriminación entre discos tratados y discos control dentro de la misma

placa), sugiere un modo de acción probablemente tóxico de estos limonoides sobre larvas de *H. armigera*. No obstante, sería necesario realizar ensayos de alimentación de larga duración con dichos limonoides para determinar el consumo y crecimiento relativo de las larvas, así como el efecto crónico potencial de cada compuesto para dilucidar de forma precisa su modo de acción.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Comunidad Autónoma de Madrid (Proyecto CCAM 06G-001-96) la financiación de este trabajo. A la Dra. Rosa Gabarra (IRTA, Cabrils) el suministro de la población inicial de *H. armigera*. A la Universidad Autónoma de Puebla, Programa SUPERA-ANUIES, México y al ICI España, por haber otorgado un permiso de superación académica y beca pre-doctoral al primer autor.

ABSTRACT

LÓPEZ-OLGUÍN, J. F. DE LA TORRE, M. C.; VIÑUELA, E. y CASTAÑERA, P., 1998: Activity of seed extracts of *Trichilia havanensis* Jacq. (Meliaceae) on larvae of *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Bol. San. Veg. Plagas*, 24(3): 629-636.

Short-term choice and no-choice feeding assays were used to assess the antifeedant activity of fruit extracts (at 5000 ppm) from *Trichilia havanensis* Jacq. (Meliaceae) against fifth instar larvae of *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). The acetonic extract, which presented the highest activity, was further fractionated by silica gel column chromatography. Five of the seven fractions isolated were identified as the limonoids: azadirone, trichilinone acetate, 14,15-deoxyhavanensin-1,7-diacetate, 14,15-deoxyhavanensine-3,7-diacetate, and a mixture of havanensin-1,7-diacetate y havanensin-3,7-diacetate.

Choice and no-choice feeding assays of each fraction (at 1000 ppm) showed the highest antifeedant activity against fifth instar larvae of *H. armigera* in the mixture of havanensin-1,7-diacetate and havanensin-3,7-diacetate. Moreover, azadirone and trichilinone acetate were also antifeedants, though no differences between them were found. No antifeedant activity was found in any of the other fractions. The antifeedant activity data suggest a similar mode of action, probably toxic, for all these limonoids.

Key words: Meliaceae, *Trichilia havanensis*, *Helicoverpa armigera*, antifeedants, limonoids, azadirone, trichilinone, havanensin.

REFERENCIAS

- ARENAS, C. y RODRÍGUEZ-HAHN, L., 1990: Limonoids from *Trichilia havanensis*. *Phytochemistry*, **29**: 2953-2956.
- BELDA, S. J. E., 1991: Lepidópteros. En: Plagas del tomate. Bases para el control integrado. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Madrid.
- BENTLEY, M. D.; LEONARD, D. E.; STODDARD, W. F. y ZALKOW, L. H., 1984: Pyrrolizidine alkaloids as larval feeding deterrents for spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **77**: 393-397.
- CHAMPAGNE, D. E.; KOUL, O.; ISMAN, M. B.; SCUDER, G. G. E. y TOWERS, G. H. N., 1992: Biological activity of limonoids from the Rutales. *Phytochemistry*, **31** (2): 377-394.
- CHAN, W. R.; GIBBS, J. A. y TAYLOR, D. R., 1973: Triterpenoids from *Trichilia havanensis* Jacq. Part I. The acetates of Havanensin and Trichilenone, New Tetracarbo-cyclic Tetranortriterpenes. *J. Chem. Soc. Perkin I*, **10**, 1047-1050.
- ESCOUBAS, P.; LAJIDE, L. y MITZUTANI, J., 1993: An improved leaf-disk antifedant bioassay and its application for the screening of Hokkaido plants. *Entomol. Exp. Appl.*, **66**: 99-107.
- LAGUNES, T. A., 1993: Uso de extractos y polvos vegetales y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia. Colegio de Postgraduados-CONACYT. Montecillos, México.
- LAVIE, D.; LEVY, E. C. y JAIN, M. K., 1971: Limonoids of biogenetic interest from *Melia azadirachta* L. *Tetrahedron*, **27**: 3927-3939.
- LÓPEZ-OLGUÍN, J. F.; BUDIA, F.; CASTAÑERA, P. y VIÑUELA, E., 1997: Actividad de *Trichilia havanensis* Jacq. (Meliaceae) sobre larvas de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **23**: 3-10.
- MORDUE, A. J. y BLACKWELL, A., 1993. Azadirachtin: an Update. *J. Insect Physiol.*, **39**: 903-924.
- PENNINGTON, T. D., 1981: A monograph of neotropical Meliaceae. En: *Flora Neotropica; monograph 28*: (Ed. Pennington, T. D.), pp. 1-232. The New York Botanical Garden, N. Y. 470pp.
- POITOUT, S. y BUES, R., 1970: Élevage de plusieurs espèces de lépidoptères Noctuidae sur milieu artificiel simplifié. *Ann. Zool. Ecol. anim.*, **2**: 79-91.
- RAFFA, K. F. y FRAZIER, J. L., 1988: A generalized model for quantifying behavioral de-sensitization to antifedants. *Entomol. Exp. Appl.*, **46**: 93-100.
- SIMMONDS, M. S. J.; BLANEY, W. M.; LEY, S. V.; SAVONA, G.; BRUNO, M. y RODRÍGUEZ, B., 1989: The anti-feedant activity of clerodane diterpenoids from *Teucrium*. *Phytochemistry*, **28**: 1069-1071.
- TAYLOR, D. A. H., 1981: Chemotaxonomy: The occurrence of limonoids in the Meliaceae. En: *Flora Neotropica; monograph 28*. (Ed. Pennington, T. D.), pp. 450-459. The New York Botanical Garden, N. Y. 470pp.

(Recepción: 13 abril 1998)

(Aceptación: 14 julio 1998)