

## **Evaluación de la capacidad inhibidora de la alimentación de un triturado de semillas de chirimoya, *Annona cherimola* Miller (Annonaceae), sobre *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)**

P. MARTÍN, F. J. SORIA, M. VILLAGRÁN, M. A. LÓPEZ, R. OCETE Y M. E. OCETE

Laboratorio de Zoología Aplicada. Facultad de Biología. Universidad de Sevilla. Avda. Reina Mercedes 6. 41012 Sevilla.

### **INTRODUCCIÓN**

El chirimoyo, *Annona cherimola* Miller, es una anonácea procedente de regiones subtropicales andinas, principalmente de Perú y Ecuador. Posteriormente, este cultivo, tras la llegada de los conquistadores españoles, fue introducido en Centro América, México y las Antillas. La introducción del chirimoyo en la costa granadina tuvo lugar en las postrimerías del S.XIX. La expansión del cultivo se produjo a partir de 1940.

En la actualidad, las principales plantaciones andaluzas de chirimoyo se encuentran en toda una serie de valles, donde muy raramente se producen heladas, de la costa subtropical de las provincias de Granada y Málaga. Esta franja, que no supera los 20 Km de anchura, se encuentra limitada, al este, por el Cabo Sacratif y la vega del Río Vélez, al oeste. En ella, la variedad conocida como *Fino de Jete* es la más extendida y

la producción de chirimoya supera las 35.000 Tm (ESPEJO et al., 1999). Con el fin de mejorar la comercialización y asegurar la calidad del producto, recientemente se ha constituido el Consejo Regulador de la Denominación de Origen Chirimoya de la Costa Tropical Granada-Málaga.

La flor del chirimoyo tiene problemas de polinización y cuajado, por lo que, frecuentemente hay que recurrir a su encarte artificial, para evitar que los frutos sean irregulares y de pequeño tamaño, con escaso o nulo valor comercial como fruta (GUIRADO, 1992). En los últimos años, se ha establecido en la localidad de Almuñécar un conato de industria transformadora que produce pulpa de chirimoyo a partir de ese desecho de producción, que puede emplearse en la fabricación de distintos derivados lácticos, helados, yogures etc.

En varios países del Centro y Sur de América, los agricultores indígenas machacan y



Fig.1. Vista general de la finca

ponen a macerar en agua las semillas de chirimoya. Posteriormente, emplean dicho líquido para tratar diversas plagas de artrópodos fitófagos (LABRADOR et al., 1993). El estudio bioquímico de dichas semillas ha revelado que contienen acetogeninas, sustancias citotóxicas (CORTÉS, et al., 1991 a, b y 1993; DEGLI ESPOSTI et al., 1994) que presentan carácter insecticida, fungicida, herbicida y antitumoral, cuyo mecanismo de acción fue analizado por ZAFRA-POLO et al. (1998).

Dado que el laboratorio de Zoología Aplicada de la Universidad de Sevilla tiene una línea de investigación abierta sobre técnicas blandas de control de plagas con productos naturales, que fue expuesta en el II Congreso Internacional de Universidades por el Desarrollo Sostenible y el Medio Ambiente (DEL TÍO et al., 1997), se han emprendido una serie de ensayos para evaluar el potencial insecticida de distintos preparados a base de semillas de chirimoya, que constituyen un subproducto de la producción de pulpa.

En el presente trabajo se exponen y analizan los resultados obtenidos en los bioensayos preliminares realizados sobre larvas de *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera, Tephritidae), que constituye uno de los problemas fitosanitarios de mayor importancia en la producción de fruta de pepita y hueso en la región mediterránea.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material vegetal

Se han empleado semillas de chirimoya extraídas de frutos recolectados en el Valle del Río Verde (Almuñécar, Granada). Inicialmente, se realizó una molienda grosera de las semillas, dejándola secar a temperatura ambiente, para evitar, en lo posible, la pérdida de compuestos volátiles. Posteriormente, el material fue triturado y tamizado por una luz de malla de 0,5 mm. No se pudo emplear una luz de malla inferior ya que la abundancia de aceites impedía el paso del producto.

### Material entomológico

Para los bioensayos se emplearon moscas de *C. capitata* criadas en el insectario del laboratorio, en las siguientes condiciones: temperatura  $25 \pm 2$  °C, humedad relativa  $70 \pm 5\%$  y fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 de oscuridad.

La dieta semiartificial que se empleó para la cría larvaria fue la siguiente: salvado de trigo 150 g, sacarosa 37,5 g, levadura de cerveza 18 g, nipagin 1 g, ácido benzoico 1,2 g y agua destilada 300 ml. Los adultos se alimentaron con una mezcla proteína de soja y sacarosa en una proporción de 1:4.

### Bioensayos

Se diseñaron dos tipos de pruebas. Una primera experiencia consistió en observar la actividad antialimentaria del citado triturado de semillas en el desarrollo larvario de *C. capitata*. Para ello, se realizaron mezclas proporcionales, en peso, del mismo con la dieta indicada. Ambos materiales se mezclaron uniformemente y, posteriormente, se añadió agua destilada a la proporción adecuada. En esta experiencia se emplearon cajas herméticas de plástico de 9 cm de diámetro por 2,5 cm de altura, en las cuales se disponían las larvas neonatas, de manera que la proporción fuese de 1 g de dieta por cada larva (25 larvas y 25 g de dieta húmeda). Las proporciones de triturado añadido a la dieta fueron, en cada contingente de cajas 1, 3, 6, 8, 10, 12, 14 y 16%. De cada tratamiento se establecieron tres repeticiones y tres cajas de control (carentes de polvo de semilla). Las larvas neonatas se obtuvieron a partir de huevos sembrados, 48 horas antes, en cajas de petri sobre papel de filtro negro húmedo.

El desarrollo de las larvas se mantuvo por espacio de 7 días (momento de máximo desarrollo larvario, previo a la pupación), tras los cuales fueron extraídas y fijadas en alcohol de 70°. Seguidamente, se contabilizó el número de individuos encontrados y, por otro, la longitud de cada uno de ellos, mediante un microscopio estereoscópico con ocular micrométrico.



Fig. 2. Frutos de chirimoyo, *Annona cherimola*.



Fig. 3. Efectos del triturado de semilla de chirimoyo sobre el desarrollo de *Ceratitits capitata*. Derecha: control. Centro: 6% Izquierda: 12%

La segunda experiencia consistió en evolucionar la mosca desde la larva neonata hasta la muerte del adulto, observando el efecto de la dieta con distintos grados de tratamiento sobre las diferentes fases de desarrollo. Para ello, se volvió a repetir el experimento descrito anteriormente. En el séptimo día, las cajas se introdujeron en otras de mayor tamaño (12 cm de diámetro x 4 cm de altura) perfectamente aireadas, para facilitar el salto y la posterior pupación de las larvas. Una vez finalizada la pupación, en cada caja, se colocaron bebederos y comida sólida.

da para adultos. En esta experiencia se anotó el número de pupas formadas y el tiempo que tardaron en conseguirlo, así como el número de adultos obtenidos, el tiempo que tardaron en emerger y su longevidad. La toma de datos se realizó cada 24 horas.

### Análisis estadístico

Para analizar los efectos del triturado de semilla de chirimoya en las distintas fases de desarrollo de la mosca se aplicaron tests para el análisis de la varianza (tests F y LSD) siendo el nivel de significación empleado del 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto sobre la mortalidad y el crecimiento de la larva

En esta primera experiencia se ha tratado de observar si existe un efecto del triturado de semilla de chirimoyo sobre la mortalidad de las larvas y sobre su crecimiento. En cuanto al primero de estos aspectos, en el Cuadro 1 aparece el número de larvas que han sobrevivido en cada dosis, así como el

porcentaje de mortalidad con respecto al control. Teniendo en cuenta que en el control se han desarrollado 70 larvas, se observa un aumento progresivo de la tasa de mortalidad según aumenta la dosificación de triturado añadida. Esta tasa es muy pequeña en la dosis de 1%, pero bastante más apreciable a partir de la dosis de 3%, de manera que se obtiene un máximo del 40% de mortandad en la dosis 16.

En cuanto al efecto del triturado sobre el crecimiento de las larvas, la longitud media de las larvas disminuye conforme aumenta la dosis añadida a la dieta de la mosca, como puede observarse en el Cuadro 1. La longitud media de las larvas de la proporción 16, por ejemplo, es el 55,54% de la longitud media del control. En todos los contingentes tratados pueden encontrarse larvas relativamente bien desarrolladas, por lo que los tamaños máximos, aunque inferiores al control, son relativamente constantes. Por el contrario, los tamaños mínimos son claramente inferiores al control, especialmente en las dosis mayores; por ejemplo la longitud mínima de las dosis 10 y 16 son tan sólo un 53% de la longitud mínima del control. Además, la proporción de larvas pequeñas aumenta conforme lo hace la dosis.

Cuadro 1. Valores característicos de las medidas de longitud de las larvas de *Ceratitis capitata* para el control (C) y las dosis utilizadas.

Dosis	N	% Mort.	Media±Se	SD	Mínimo	Máximo
C	70		8,57±0,05	0,42	6,60	9,10
1	69	1,43	8,39±0,08	0,68	4,50	9,30
3	62	11,43	7,98±0,08	0,66	6,00	9,10
6	59	15,71	6,04±0,14	1,09	3,90	7,60
8	54	22,86	5,92±0,13	0,99	4,10	7,50
10	56	20,00	5,50±0,13	1,01	3,50	7,60
12	46	34,28	5,23±0,14	0,96	3,70	7,20
14	43	38,57	5,09±0,17	0,99	3,60	6,70
16	42	40,00	4,76±0,15	0,97	3,50	7,50

Para comprobar si existían diferencias estadísticas entre las longitudes medias de las diferentes dosis, se realizó un test ANOVA, según el cual las repeticiones correspondientes a una misma dosis eran similares entre sí, por lo que se han estudiado conjuntamente. El análisis entre las distintas dosis mostró diferencias significativas entre ellas ( $F=172,03$ ), por lo que este producto tiene un efecto negativo en el desarrollo larvario. Sin embargo, se observó que dosis próximas entre sí no se separaban estadísticamente: control-1, 6-8, 10-12, 12-14 y 14-16; la dosis del 3% formó un grupo independiente.

#### **Efecto sobre la duración de la fase de larva**

La segunda experiencia consistió en estudiar el efecto del producto sobre la duración de las distintas fases del desarrollo, desde el día de la siembra de las larvas neonatas. La duración de la fase de larva se recoge en el Cuadro 2, en el que se muestra el número de días que tardó en pupar el 100% de las larvas que se desarrollaron. Se puede observar que existe un efecto dosisdependiente, de manera que la duración del periodo larvario se alarga conforme aumenta la dosis empleada. Al realizar el test ANOVA, se obtuvieron diferencias significativas ( $F=72,78$ ) para las distintas dosis y el control, aunque al igual que en la experiencia anterior se formaron grupos en los cuales las medias no fueron significativamente diferentes: control-1, 3-6, 6-8, 8-10, 10-12, 12-14 y 14-16. En ambas experiencias, estos grupos se forman debido a que las dosis utilizadas están demasiado próximas entre sí como para observar un efecto claramente distinto entre las mismas. Sin embargo, los resultados muestran que el triturado produce un incremento temporal de la fase larvaria, a lo cual debe sumarse el efecto negativo sobre el crecimiento en longitud observado en la experiencia anterior, como ocurre con otros productos de origen vegetal inhibidores de alimentación (PÉREZ, 1994).

#### **Efecto sobre la emergencia y longevidad de *C. capitata***

De forma similar a la expuesta anteriormente, se contabilizó el número de días que tardaron en emerger el 100% de las moscas en las distintas dosis y en el control, contados a partir de la fecha de siembra de neonatas (Cuadro 2). Los resultados son similares a los expuestos en el punto anterior, obteniéndose diferencias significativas entre las distintas dosis y el control ( $F=163,11$ ). No obstante, también se formaron grupos cuyas medias no eran diferentes: control-1, 6-8, 8-10-12-14 y 12-14-16; la dosis 3 formó un grupo independiente.

Por otro lado, se calculó la longevidad media de los imagos como la diferencia entre el número medio de días en que murieron las moscas y el número medio de días medio que tardaron en pupar el 100% de los individuos; este cálculo se hizo tomando como referencia el 50% y 100% de muertes (Cuadro 2). Los resultados mostraron que la longevidad media de las moscas del control fue superior a la de las moscas alimentadas con dieta y triturado de semilla, aunque no se pudo establecer una relación entre la longevidad y las dosis empleadas en la dieta larvaria y el control. El análisis estadístico (ANOVA) no mostró diferencias significativas entre el número medio de días que tardaron en morir el 50% de las moscas ( $F=1,57$ ) o el 100% ( $F=2,04$ ) entre ninguna de las dosis y el control. Un efecto semejante al expuesto puede encontrarse en ensayos similares realizados con otros insectos (OCETE *et al.*, 1998).

En definitiva, el triturado de semillas de chirimoya, incrementa la mortalidad de la fase de desarrollo y ralentiza el crecimiento de *Ceratitis capitata*, como ocurre con la aplicación de otras sustancias botánicas que contienen aleloquímicos que modifican la fisiología de los artrópodos.

**Cuadro 2. Número medio de días que tardan en pupar las larvas de *Ceratitis capitata*, número medio de días que tardan en emerger los imagos y longevidad media de los mismos. PF: número de pupas formadas; N.d.p.: número medio de días en pupar y error estándar de la media; M.E.: número de imagoes-mergidos; N.d.m.: número medio de días en emerger los imagos y error estándar; N.d.m. 50, N.d.m.100: número medio de días que tardan en morir el 50% y 100% de los imagos, respectivamente.**

Dosis	P.F.	N.d.p	M.E.	N.d.m	N.d.m.50	N.d.m.100
C	72	11,00±0,00	71	19,67±0,33	44,00±5,03	95,33±8,33
1	67	11,67±0,33	67	20,33±0,33	34,00±8,66	61,33±5,24
3	62	14,00±0,00	60	24,00±0,00	34,66±4,63	54,33±10,04
6	60	15,00±0,00	54	27,33±0,33	28,33±5,21	54,67±7,84
8	58	16,00±0,00	52	28,00±0,00	31,66±2,18	76,67±6,64
10	57	17,00±0,00	50	28,33±0,33	29,33±4,67	62,67±13,42
12	49	17,67±0,33	44	28,67±0,33	22,00±0,57	55,67±13,30
14	43	18,67±0,88	36	28,67±0,33	36,33±2,73	64,67±8,09
16	41	19,67±0,33	35	29,33±0,33	24,33±8,35	56,67±8,76

## AGRADECIMIENTO

Queremos hacer patente la inestimable colaboración prestada por D. José Alaminos, del Excmo. Ayuntamiento de Almuñécar (Granada)

## ABSTRACT

**Evaluation of the antifeedant activity of triturated seeds of *Anona cherimola* Miller (Annonaceae) on *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera, Tephritidae).**

The Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera, Tephritidae), constitutes one of the most important pests on fruit trees in Andalucía (Southern Spain). In the province of Granada coast, a new industry to extract pulp of fruits of *Anona cherimola* Miller (Annonaceae) to make several kinds of lacteous preparations is actually developing. Due to this fact, seeds are a subproduct of the cited activity, so bioassays on the addition of different doses of whole triturated seeds to the semiartificial rearing diet of the dipteran were carried out. Results indicate that the cited product has an antifeedant activity on larvae of the cited pest.

**Key words:** *Anona cherimola*, *Ceratitis capitata*, antifeedant activity.

## REFERENCIAS

- CORTÉS, D., MYINT, S. H., Dupont, B. y DAVOUST, D., 1993. Bioactive acetogenins from seeds of *Anona cherimolia*. *Phytochemistry*, 32 (6): 1474-1482.
- CORTÉS, D., MYINT, S. H. y HOCQUEMILLER, R., 1991a. Molvizarin and Motrilin: Two novel Cytotoxic bis-tetrahydrofuranic  $\delta$ -lactone acetogenins from *Annona cherimolia*. *Tetrahedron*, 47 (38): 9195-8202.
- CORTÉS, D., MYINT, S. H., LEBOEUF, M. y CAVÉ, A., 1991b. A new type of cytotoxic acetogenins: the tetrahydrofuranic  $\beta$ -hydroxy methyl  $\delta$ -lactones. *Tetrahedron Letters*, 32 (43): 6133-6134.
- DEGLI ESPOSTI, M., GHELLI, A., RATTA, M., CORTÉS, D. y ESTORNELL, E., 1994. Natural substances (acetogenins) from the family Annonaceae are powerful inhibitors of mitochondrial NADH dehydrogenase (Complex I). *Biochem J*, 301: 161-167.
- DEL TÍO, R.; OCETE, R.; LÓPEZ, M. A.; OCETE, M. E. y PÉREZ, M. A., 1997. La Investigación sobre extractos de la Flora Mediterránea para paliar el Impacto Ambiental de los Fitosanitarios de síntesis. Comunicaciones del II Congreso Internacional de Universidades por el Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente. Rosúa Campos, J.L. et al. (Eds.). Vol I: 73-80.
- ESPEJO, J. A., GONZÁLEZ GARCÍA, R. F. y GONZÁLEZ PADILLA, I., 1999. Informe socioeconómico y técnico del Proyecto de Denominación de Origen «Chirimoya de la Costa Tropical de Granada-Málaga». Caja General de Ahorros de Granada.
- GUIRADO, E., 1992. Polinización artificial del chirimoyo. Publicaciones del Gabinete Técnico de la Caja Rural de Granada.
- LABRADOR, J., LÓPEZ BENÍTEZ, L., REYES, J. y GUIBERTEAU, A., 1993. Guía de productos utilizables en agricultura y ganadería ecológicas. Secretaría General Técnica de la Junta de Extremadura. Badajoz.
- OCETE, R., LÓPEZ, M. A. y PÉREZ, M. A., 1998e. Efectos de la aplicación de extractos de *Daphne gnidium* L. y *Anagyris foetida* L. a la dieta natural de la altica de la vid, *Haltica ampelophaga* Guér. (Coleoptera, Chrysomelidae). XIX Jornadas de Viticultura y Enología Tierra de Barros. Ed. Cultural Santa Ana.
- PÉREZ, M. A., 1994. Estudios sobre la actividad antialimentaria de *Daphne gnidium* L. y *Anagyris foetida* L. sobre artrópodos para su posible aplicación en control integrado de plagas. Tesis doctoral. Univ. de Sevilla.
- ZAFRA-POLO, M. C., FIGADÈRE, B., GALLARDO, T., TORMO, J. R. y CORTES, D., 1998. Natural acetogenins from Annonaceae, synthesis and mechanisms of action. *Phytochemistry*, 48 (7): 1087-1117.

(Recepción: 20 diciembre 1999)

(Aceptación: 17 julio 2000)