

EFECTO ANTIALIMENTARIO DE *MELIA AZEDARACH* L. EN DOS ESPECIES DE INSECTOS FITÓFAGOS (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Yarelis Ortiz Núñez,¹ Rubén Avilés Pacheco,¹ Iraida Spengler Salabarría,² Yamilet Rodríguez Díaz,¹ María Elena Álvarez Valdés,¹ Yannin Lorenzo Rodríguez,¹ Yolanda Martínez Suárez¹ y Nancy Ramos Gómez¹

¹ Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical Alejandro de Humboldt. Calle 1.^a esq. a 2, Santiago de las Vegas, Ciudad de La Habana, yareliso@inifat.co.cu

² Centro de Estudios de Productos Naturales. Facultad de Química, Universidad de La Habana. Calle 25 no. 455 esq. a J, Ciudad de La Habana

RESUMEN

Los frutos secos y molidos de la planta *Melia azedarach* L., perteneciente a la familia Meliaceae, se sometieron a un proceso de extracción con acetato de etilo. El crudo de acetato de etilo (T_1) resultante se fraccionó posteriormente con benceno, para obtener los crudos bencénico y no bencénico (T_2 y T_3 respectivamente) a los que se les evaluó el efecto antialimentario sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* y *Mocis latipes* por el método de los discos de hojas. En cada caso se determinaron los coeficientes de aceptación del alimento. El mayor efecto antialimentario de los extractos sobre las dos especies de insectos se observó en el extracto bencénico T_2 . Asimismo se evaluó la actividad antialimentaria de los compuestos 21b-etoximelianodiol y ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzoico obtenidos a partir del crudo bencénico (T_2). El compuesto hidroxibenzoico presentó buena actividad, y llegó a disminuir la alimentación de las larvas en el 80,3% al segundo día del ensayo.

Palabras claves: efecto antialimentario, *Melia azedarach* L., *Spodoptera frugiperda*, *Mocis latipes*

ABSTRACT

Dried and ground fruits of *Melia azedarach* L. plant, from Meliaceae family, were extracted with ethyl acetate. The resulting crude of ethyl acetate (T_1) was fractionated later with benzene to obtain both the benzene and non benzene crude (T_2 and T_3 , respectively), and the antifeeding effect of the extracts was tested on *Spodoptera frugiperda* and *Mocis latipes* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae using the conventional leaf disks method and, in each case, the food acceptance coefficients (fd) were calculated. The greater antifeedant effect of the extracts on the two species of insects was observed in benzene extract T_2 . There was also investigated the antifeedant activity of 21b-ethoxymelianodiol and 3-methoxy-4-hydroxybenzoic acid which were obtained from benzenic crude (T_2). Hydroxybenzoic compound presented good activity, and got to diminish larvae feeding in 80.3% to the second day of the test.

Key words: antifeedant, *Melia azedarach* L., *Spodoptera frugiperda*, *Mocis latipes*

INTRODUCCIÓN

La producción de hortalizas de calidad en áreas urbanas requiere, más que en ninguna otra parte, de la utilización de métodos agroecológicos de manejo de plagas, donde intervengan productos compatibles con el medioambiente.

Las propias plantas pueden constituir una alternativa aceptable, dado que generan compuestos químicos que pueden actuar modificando la conducta de ciertas plagas [Amita *et al.*, 2003; Back *et al.*, 2003; Marongiu *et al.*, 2004]. Tal es el caso de algunos taxas de la familia Meliaceae que contienen compuestos activos con efecto antiapetitivo y repelente [Siddiqui *et*

al., 2003; Morgan *et al.*, 2004; Simmonds *et al.*, 2004; Nathan, 2006].

El paraíso –*Melia azedarach* L.– es una de las meliáceas reportada con efecto antialimentario contra varias especies fitófagas [Koul *et al.*, 2002; Carpinella *et al.*, 2003]. Este árbol, cultivado en patios y jardines [Roig, 1974] se ha difundido, en los últimos años, a lo largo y ancho del territorio nacional.

De acuerdo con estos antecedentes se consideró interesante conocer la acción antialimentaria de extractos crudos concentrados y compuestos aislados de paraíso, evaluados contra dos especies de lepidópteros de importancia agrícola.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron frutos maduros de paraíso y se dejaron secar a la sombra durante 30 días. Posteriormente se secaron en una estufa al 50°C y molidos hasta polvo fino. Se tomó 1 kg de la biomasa molida y se sometió a un proceso de extracción según el método de Schröder y Koji (1987). Se separó una porción del crudo de acetato de etilo resultante (T₁) para los ensayos de actividad biológica, y el resto se sometió a un fraccionamiento, que consistió en añadir porciones de 50 mL de benceno por cuatro veces y, mediante calentamiento en baño de agua, se extrajeron los dife-

rentes compuestos solubles en este solvente, cuyos extractos fueron unidos y concentrados, a los que se les nombró *crudo bencénico* (T₂), mientras que al resto de los compuestos no solubles *crudo no bencénico* (T₃), a todos los cuales también se les realizaron pruebas biológicas.

En un trabajo realizado previamente por Ortiz *et al.* (2004) se aisló, a partir del crudo bencénico (T₂), el compuesto novedoso 21b-etoximelianodiol (*Fig. 1a*) y el compuesto de estructura conocida ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzoico (*Fig. 1b*) mediante repetidas cromatografías de columnas de gel de sílice.

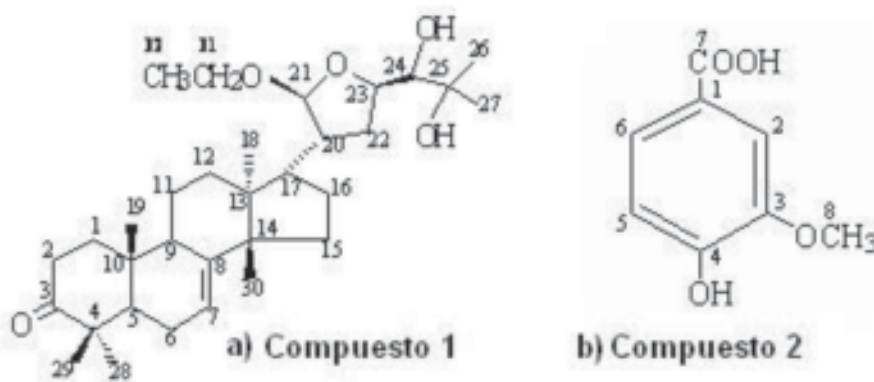


Figura 1. Compuestos de la extracción bencénica de frutos de *Melia azedarach*.

La posible acción antialimentaria de los crudos de acetato de etilo bencénico y no bencénico (T₁, T₂ y T₃), obtenidos de los frutos de paraíso, se estudiaron en dos especies de insectos fitófagos, usados normalmente en el Inifat como indicadores biológicos en ensayos de búsqueda de nuevos compuestos bioactivos. Estos fueron *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) y *Mocis latipes* Guerin (Lepidoptera: Noctuidae), ambos criados artificialmente en condiciones de laboratorio sobre hojas de *Sorghum halepense* L.

Se montaron dos bioensayos para cada especie según el método de los discos de hojas referido por Pérez *et al.* (1992). Para medir el efecto antialimentario los crudos T₁, T₂ y T₃ se formularon al 25% en etanol con el 5% de tensoactivo, y luego se emulsionaron en agua al 12,5% v/v. Los discos de hojas de 1 cm de diámetro se sumergieron durante 60 s en la suspensión indicada, y posteriormente se secaron al aire. Otro grupo usado como control se trató solamente con agua. Cinco tratados de hojas y cinco sin tratar se colocaron de forma alterna

en el fondo de placas Petri de 14 cm de diámetro, donde previamente se había puesto un papel de filtro humedecido. Posteriormente se liberaron en su interior cinco larvas del estadio L₃ de las especies objeto de estudio.

En el experimento se utilizaron cuatro réplicas por tratamiento, y se dejó un control absoluto donde los discos se aplicaron solamente con agua. Transcurridas 24 h se evaluó visualmente el porcentaje de área foliar consumida y se obtuvieron los valores de consumo foliar en discos tratados, en relación con los no tratados, para obtener los coeficientes de aceptación del alimento (fd) acorde con lo planteado por Mikolajczak y Reed (1987), quienes asumieron los valores de 1 correspondientes a la misma cantidad de tejido consumido en ambos tratamientos (no hay modificación en la conducta alimentaria), mientras que valores de 0,25 o menos pueden considerarse como indicativos de la acción antialimentaria en los extractos evaluados. Los datos obtenidos fueron transformados en $\sqrt{n+1}$ y se some-

tieron a análisis de varianza y prueba de comparación de medias con $p \leq 0,05$ para confirmar biométricamente las diferencias entre las medias muestrales.

De la misma manera se evaluó el efecto antialimentario de los compuestos 1 y 2, a la concentración del 2% v/v, y se utilizaron como insecto indicador las larvas de *M. latipes*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores medios de los coeficientes de aceptación en los discos tratados y no tratados con los extractos cru-

dos de los frutos de paraíso indican que se produjo una notable disminución de la alimentación de las larvas de *S. frugiperda*, al alcanzarse valores por debajo de 0,25, que es el valor crítico del coeficiente de aceptación según Mikolajczak y Reed (1987) (Tabla). Aunque los tres crudos T₁, T₂ y T₃ mostraron muy buen efecto, los mejores resultados se alcanzaron con el crudo T₂, que mostró el coeficiente más bajo de $0,06 \pm 0,007$. El análisis de varianza efectuado a los valores transformados confirmó estadísticamente las diferencias entre el testigo y los tratados, mientras que entre estos últimos las diferencias no fueron significativas ($p \leq 0,05$).

Efecto antialimentario causado por los extractos de acetato de etilo (T₁), bencénico (T₂) y no bencénico (T₃) en larvas de *Spodoptera frugiperda* y *Mocis latipes*. Valores medios de los coeficientes de aceptación del alimento

Tratamientos	Larvas	
	<i>Spodoptera frugiperda</i>	<i>Mocis latipes</i>
Testigo	0,91±0,019 a	1,08±0,167 a
T ₁	0,10±0,012 b	0,37±0,059 b
T ₂	0,06±0,007 b	0,15±0,017 b
T ₃	0,10±0,009 b	0,42±0,035 b
ES	0,03	0,03

Resultados igualmente satisfactorios se observaron cuando los discos tratados se pusieron a disposición de las larvas de *M. latipes* (Tabla). Al comparar los valores de los coeficientes de aceptación de las variantes tratadas en relación con el testigo, se puede ver que las larvas del insecto disminuyeron la tendencia a consumir el alimento tratado, lo cual se corroboró al comparar estadísticamente las diferencias entre las medias muestrales ($p \leq 0,05$). No obstante, es de resaltar que la respuesta no se produjo con la misma intensidad que en el caso de las larvas de *S. frugiperda*, pues los extractos T₁ y T₃ mostraron valores ligeramente superiores a 0,25; sin embargo, el extracto T₂ nuevamente mostró los mejores resultados con un coeficiente de aceptación de $0,15 \pm 0,017$, lo cual lo hace superior al resto de los tratamientos.

En la Fig. 2 se muestra la actividad antialimentaria de los compuestos 1 y 2 sobre larvas de *M. latipes*. Se observa que el compuesto 1 no presentó actividad. Es de destacar este comportamiento, pues la literatura recoge el efecto antialimentario de los compuestos aislados con

este tipo de estructura [Jiménez *et al.*, 1998; Ascher y Schmutterer, 1995]; pero con un grupo hidroxilo en el carbono 21, por lo que, al parecer, la presencia de un grupo etoxilo disminuye considerablemente la actividad antialimentaria. El compuesto 2 presentó buena actividad y llegó a disminuir la alimentación de las larvas en el 80,3% al segundo día del ensayo, y en los días siguientes se obtuvieron valores por encima del 50%.

Los resultados indican la presencia de compuestos antialimentarios en los frutos de *M. azedarach* cultivada en Cuba, y también confirman lo planteado por otros autores acerca de la presencia de compuestos con potente actividad antialimentaria en los frutos de plantas de esta especie [Ascher *et al.*, 1995; Jiménez *et al.*, 1998; Koul *et al.*, 2002].

Los excelentes resultados con el extracto T₂ en las dos especies de lepidópteros sugieren continuar el estudio fitoquímico posterior, a fin de conocer detalladamente acerca de los metabolitos comprometidos en esta bioactividad.

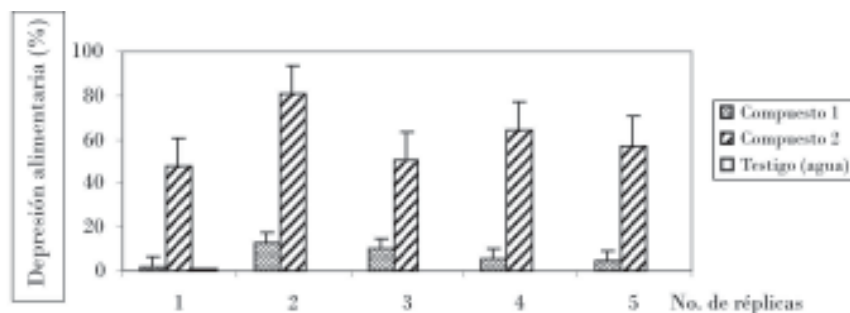


Figura 2. Actividad antialimentaria de los compuestos 1 y 2.

CONCLUSIONES

- Se confirmó la presencia de compuestos antialimentarios en los frutos de *M. azedarach* cultivada en Cuba.
- El extracto bencénico T₂ mostró el mejor efecto antialimentario sobre larvas de *Mocis latipes* y *Spodoptera frugiperda*.
- El ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzoico presentó buena actividad antialimentaria en larvas de *Mocis latipes*, mientras que el 21β-etoximelianodiol fue inactivo.

REFERENCIAS

- Ascher, K. R. S.; H. Schmutterer; C. P. W. Zebitz; S. N. H. Naqvi: *The Persian Lilac or Chinaberry Tree: Melia azedarach L. Source of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and other Purposes*, 605-642, Alemania, 1995.
- Back, T. G.; R. P. Pharis: «Structure-Activity Studies of Brassinosteroids and the Search for Novel Analogues and Mimetics with Improved Bioactivity», *J. Plant Growth Regul.*, 22:350-361, EE.UU., 2003.
- Carpinella, M. C.; M. T. Defago; G. Valladares; S. Palacios: «Antifeedant and Insecticide Properties of a Limonoid from *Melia azedarach* (Meliaceae) with Potencial Use for Pest Management», *J. Agric. Food Chem.* 51:369-374, EE.UU., 2003.
- Jiménez, A.; C. Villareal; A. R. Toscano; M. Cook; T.J. Arnason; R. Bye; R. Mata: «Limonoids from *Swietenia humilis* and *Guarea grandiflora* (Meliaceae)», *Phytochemistry* 49 (7):1981-1988, EE.UU., 1998.
- Koul, O.; J. S. Multani; G. Singh; S. Wahab: «Bioefficacy of Toosendanin from *Melia dubia* (syn. *M. azedarach*) Against Gram Pod-borer, *Helicoverpa armigera* (Hübner)», *Current Science* 83(11):1387-1391, India, 2002.
- Marongiu, B.; S. Porcedda; A. Caredda; A. Piras: «Isolation of *Juniperus phoenicea* Volatiles by Supercritical Carbon Dioxide Extraction and Bioactivity Assays», *J. Essent. Oil Res.* 16:256-261, EE.UU., 2004.
- Mikolajczak, K. L.; D. K. Reed: «Extractives of Seeds of Meliaceae: Effects on *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), *Acalymma vittatum* (F.) and *Artemia salina* Leach.», *Journal of Chemical Ecology*, 13 (1): 99-110, EE.UU., 1987.
- Morgan, E. D.: *The Place of Neem Among Modern Natural Pesticides*, Neem: Today and in the New Millennium, Kluwer Ac. Pub., Países Bajos, 2004, pp. 21-32.
- Nathan, S. S.: «Effects of *Melia azedarach* on Nutritional Physiology and Enzyme Activities of the Rice leafhopper *Cnaphalocrosis medinalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae)», *Pesticide Biochemistry and Physiology* 84:98-108, Inglaterra, 2006.
- Ortiz, Y.; I. Spengler; R. Avilés; C. Pérez; Y. Rodríguez: «21β-etoximelianodiol, un protolimonoido novedoso aislado de los frutos de una especie cubana de *Melia azedarach* L.», *Afinidad* 61:511, España, 2004.
- Pérez, M. A.; R. Ocete, M. Lara: «Ensayos sobre la actividad antialimentaria de un extracto etanólico de hojas de *Daphne gnidium* L. frente a cuatro especies de insectos», *Bol. San. Veg. Plagas*, 18:435-440, España, 1992.
- Rivera, A. M. M.; C. C. Guerra.; M. M. Figueredo.; R. R. Gálvez; R. A. O. Velazco: «Efecto de plaguicidas de origen botánico sobre el áfido *Carolinaia cyperi* Ainslie», *Rev Cubana Plant Med.* 8(3), 2003 (disponible en <http://scielo.sld.cu>).
- Roig, J. T.: *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba*, Ciencia y Técnica, Instituto del Libro, La Habana, 1974.
- Schröder, D. R.; N. Koji: «A Simplified Isolation Procedure for Azadirachtin», *Journal of Natural Products* 50(2):241-44, EE.UU., 1987.
- Siddiqui, B. S.; M. Rasheed; S. Faizia; S. A. Tariq.; M.T. Raiput; N. S. Naqvi: «Transformation of Azadiradione to Nimbecinol and 17-Hydroxynimbecinol, and Structure Pesticidal-Activity Relationship of Triterpenoids isolated from *Azadirachta indica* A. Juss. (Neem)», *Helvetica Chimica Acta* 86: 3342-3353, Suiza, 2003.
- Simmonds, M. S. J.; A. P. Jarvis; S. Johnson; G. R. Jones; E. D. Morgan: «Comparison of Anti-feedant and Insecticidal Activity of Nimbin and Salannin Photo-Oxidation Products with Neem (*Azadirachta indica*) Limonoids», *Pest Management Science* 60:459-464, EE.UU., 2004.