

Actividad antialimentaria de extractos de *Daphne gnidium* L. y *Anagyris foetida* L. sobre *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae)

M. A. PÉREZ IZQUIERDO y R. OCETE

A partir de hojas desecadas de *Daphne gnidium* L. (Thymelaeaceae) y de *Anagyris foetida* L. (Papilionaceae), se ha obtenido un extracto de cada especie. En el caso de la primera planta, se empleó como extractante etanol de 96° y, en el de la segunda, una disolución de ácido clorhídrico al 3 %.

Mediante un test de selección, en el que se han utilizado discos de hojas de patata, alojados en placas de Petri, se ha valorado la capacidad antialimentaria de diferentes dosis de cada extracto frente a larvas del tercer estadio del escarabajo de la patata, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Col.: Chrysomelidae).

De acuerdo con el análisis de los resultados obtenidos, las dosis de 40 y 30 µg/cm², de ambos extractos, ejercen un satisfactorio grado de inhibición de la alimentación sobre este crisomélido.

M. A. PÉREZ IZQUIERDO y R. OCETE. Laboratorio de Zoología Aplicada. Facultad de Biología. C/ Reina Mercedes, 6. 41012 Sevilla.

Palabras clave: *Anagyris foetida* L., efecto antialimentario, *Daphne gnidium* L., extractos, *Leptinotarsa decemlineata* Say.

INTRODUCCION

Los metabolitos secundarios de las plantas, hasta hace unas décadas, eran considerados como sustancias carentes de una misión específica, que reflejaban un mero aspecto de la biodiversidad. De su estudio, se podía derivar el establecimiento de ciertas líneas filogenéticas.

Las investigaciones realizadas, fundamentalmente, a partir de los años setenta, en el terreno de la ecología química, han puesto de manifiesto que muchos de estos compuestos secundarios juegan un importante papel en las relaciones planta-insecto (REESE, 1987). Algunos, ya sea por separado o de forma sinérgica, constituyen una auténtica barrera química de defensa para el vegetal frente a determinadas plagas y enfermedades.

Muchas de estas sustancias no son neurotóxicas para los insectos fitófagos, pero sí pueden interferir en su fisiología, como ocurre con fitoecdisteroides, antagonistas de la hormona de muda, agonistas y antagonistas de la hormona juvenil, inhibidores de la síntesis de quitina, inhibidores de la alimentación, etc.

Los efectos negativos derivados del uso de los insecticidas convencionales de síntesis y, pese a que existe, como indica BELLES (1993), una gran inercia a seguir empleándolos, por causas comerciales, instan a resolver los problemas fitosanitarios mediante otras vías. Entre ellas, dentro de la filosofía del control integrado de plagas, se encuentra la de la aplicación de extractos vegetales, purificados o en bruto, con carácter antialimentario (VAN BEEK y DE GROOT, 1988). De ahí, que hallamos emprendido la búsqueda

da de flora silvestre de nuestra región, que exhiba bajos niveles de infestación, para realizar una serie de extractos y evaluar su carácter inhibitor de la alimentación sobre distintas especies-plaga, como es el caso del escarabajo de la patata, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Col.: Chrysomelidae) (Figuras 1 a, b y c).

Existe una abundante bibliografía sobre experiencias llevadas a cabo con el empleo de este crisomélido y diferentes tipos de an-



Fig. 1.—*Leptinotarsa decemlineata* Say.

- a) Cópula.
- b) Puesta.
- c) Larvas.

tialimentarios; entre ellas, destacamos las de los trabajos que han puesto de manifiesto el efecto inhibitor de la alimentación que causan ciertos fungicidas de cobre (SZENTESI y JERMY, 1985) que ejercen un efectivo control de este escarabajo (HARE y MOORE, 1988).

MATERIAL Y METODOS

Nuestras observaciones de campo, realizadas a nivel de Andalucía Occidental, nos han sugerido realizar ensayos con *Daphne gnidium* L., perteneciente a la familia Thymelaeaceae, y *Anagyris foetida*, componente de Papilionaceae.

La primera especie se recolectó en las cuadrículas con coordenadas UTM: 30STG3832 y 30STG3833, dentro del término municipal de Dos Hermanas (Sevilla), a comienzos de noviembre. La otra, se recogió en la cuadrícula con coordenadas UTM: 30STF7169, dentro del término municipal de Prado del Rey (Cádiz), a principios de junio. El secado de ambas se realizó al aire libre.

Los extractos A y B, procedentes de *Daphne* y *Anagyris*, respectivamente, se realizaron a partir de las hojas trituradas.

El extracto A, que contenía compuestos cumarínicos, derivados flavónicos, taninos y resinas, se obtuvo mediante una extracción sólido-líquido en continuo, empleando como disolvente etanol de 96°, de acuerdo con las consideraciones que aparecen en PÉREZ *et al.* (1992).

Para extraer los alcaloides, presentes en las hojas de *Anagyris*, se emplearon 300 ml de una disolución de ácido clorhídrico al 3 %, en un baño de agua, sin sobrepasar los 45° C de temperatura, con agitación. Tras proceder a su filtrado, se obtuvo el extracto B, en el que se detectó la presencia de citisina y anagirina y malato de calcio.

En ambos casos, se partió de 20 g de hojas, y, mediante la acción del rotavapor, se llevaron las muestras a sequedad, para

poder prefijar las concentraciones de las disoluciones fueron ensayadas.

En el caso del extracto A, la masa alquitranosa obtenida, se disolvió inicialmente en una mezcla que contenía cuatro partes de acetona y una de agua, en el interior de una cubeta de ultrasonidos. De esa solución patrón, se tomaron distintas alícuotas, que previa dilución al 50 %, de nuevo en acetona, constituyeron las cuatro disoluciones testadas.

Del extracto B, se tomó una alícuota que se diluyó, a la mitad, en acetona. A partir de esta solución patrón, utilizando acetona, se obtuvieron las otras cuatro disoluciones que fueron testadas.

Para el bioensayo, de cada una de las cuatro disoluciones obtenidas a partir de cada extracto, se tomaron 10 µl, con una microjeringa, que fueron repartidos uniformemente por el haz de los cuatro discos vegetales (DT), de 1 cm² de superficie, que se alternaban con otros cuatro de control (DC), sobre los que se extendió, análogamente, el mismo volumen de acetona. Cada grupo de 8 discos se encontraba alojado en el interior de una caja de Petri, de 8,5 cm de diámetro.

Cuando se ha evaporado el líquido extendido sobre cada disco, fueron colocadas, en el centro de cada placa, 5 larvas de tercera edad del escarabajo de la patata (Figuras 2 y 3).

Los insectos se recogieron en un cultivo de patata situado en el término municipal de Cuzcurrita de Rio Tirón (La Rioja).

Durante el desarrollo del test de selección, se fueron midiendo las superficies consumidas de los DT y DC, a diferentes tiempos. Con los datos obtenidos, se calculó el FR₅₀ (feeding ratio), que es el cociente entre la superficie total consumida de los DT y la correspondiente a los DC, en el momento en que las larvas han consumido el 50 % del control, de acuerdo con ANTONIOUS y SAITO (1981).

Los discos vegetales fueron cortados mediante un sacabocados, eligiendo aquellas partes del limbo foliar de patata (variedad Desirée) que no contuviesen nerviaciones gruesas, tras haber lavado cuidadosamente



Fig. 2.—Daños causados por la plaga.



Fig. 3.—Aspecto de una placa en el comienzo del test de selección.

las hojas, para evitar la presencia de residuos de pesticidas.

Las condiciones del experimento fueron: 25° C de temperatura, 65 % de humedad relativa y oscuridad total, salvo en el momento de las valoraciones.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos con 12 repeticiones, para cada dosis, aparecen en el Cuadro 1.

Cuadro 1.—Resultados obtenidos con 12 repeticiones, para cada dosis

Extracto	Dosis ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	FR ₅₀ \pm SEM
A	40	0,21 \pm 0,06
A	30	0,37 \pm 0,12
A	20	0,66 \pm 0,04
A	10	0,95 \pm 0,11
B	40	0,22 \pm 0,06
B	30	0,31 \pm 0,09
B	20	0,58 \pm 0,07
B	10	0,73 \pm 0,09

SEM es la desviación estándar de la media.

En las Figuras 4 y 5 se ofrece una representación gráfica de dichos resultados.

El tiempo necesario para que se consumiese el 50 % de la superficie de los DC estuvo comprendido entre 1 y 2 horas.

– Las dosis de 40 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de ambos extractos ejercen un efecto antialimentario similar, mostrándose muy efectivas, teniendo en cuenta que se trata de extractos no purificados, ya que los dos índices de FR₅₀ obtenidos son muy inferiores al valor de 0,5.

– A concentraciones comprendidas entre los 30 y 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, el extracto B se muestra más activo frente a las larvas de este crisomélido; pero, por debajo de la concentración correspondiente a 30 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, deja de ejercer una protección satisfactoria.

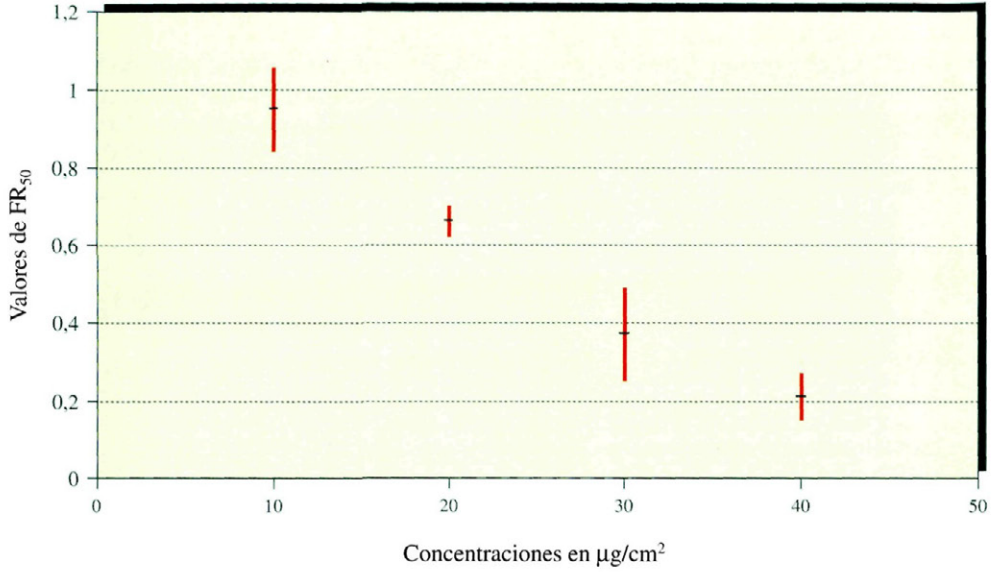


Fig. 4.-Representación gráfica de los valores medios de FR obtenidos con el extracto A.

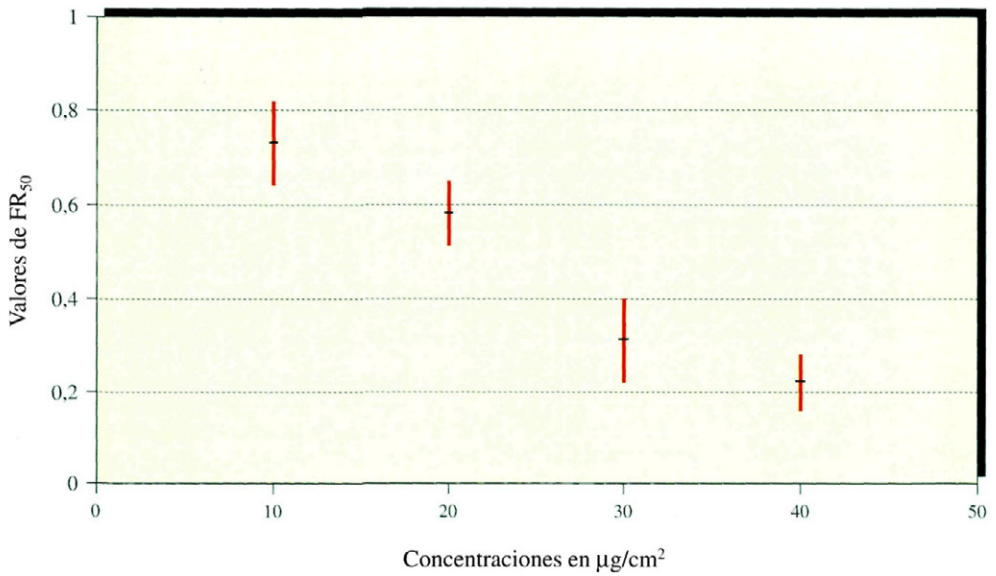


Fig. 5.-Representación gráfica de los valores medios de FR obtenidos con el extracto B.

– Estos estudios básicos de laboratorio deben complementarse con experiencias de campo, para ver si los resultados hacen recomendable el emprender ulteriores estudios que, finalmente, hicieran recomendable el empleo de los extractos de estas plantas, al menos, en parcelas con un modelo de agricultura ecológica.

AGRADECIMIENTOS

Queremos hacer patente nuestra gratitud por la colaboración que nos ha sido prestada, para la realización de este trabajo, por D. Nahúm Gómez Muñecas, agricultor de la localidad de Cuzcurrita de Río Tirón (La Rioja).

ABSTRACT

PÉREZ IZQUIERDO, M. A. y OCETE, R., 1994: Actividad antialimentaria de extractos de *Daphne gnidium* L. y *Anagyris foetida* L. sobre *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**(3): 617-622.

From dried leaves of *Daphne gnidium* (Thymeleaceae) and *Anagyris foetida* L. (Paeoniaceae) two kinds of extracts have been obtained; independently, their antifeedant activities have been evaluated by choice tests, using the leaf-disc method, on third instar larvae of the Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Col.: Chrysomelidae).

According to the data obtained, the doses of 40 and 30 µg/cm² of both extracts have a competent antifeedant activity.

Key words: *Anagyris foetida* L., antifeedant activity, *Daphne gnidium* L., extracts, *Leptinotarsa decemlineata*.

REFERENCIAS

- ANTONIOUS, A. G. y SAITO, T., 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 plants diterpenes. *Appl. Ent. Zool.*, **16**(4): 328-334.
- BELLES, X., 1993: Tendencias y contradicciones en el diseño de insecticidas. *Phytoma España*, **45**.
- HARE, D. J. y MORE, R. B. E., 1988: Impact and management of late season populations of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) on potato in Connecticut. *J. Econ. Entomol.*, **81**: 914-921.
- 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**: 435-440.
- REESE, J. C., 1979: *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites*, 309-330. G. A. Rosenthal y D. H. Anzen Ed., Academic Press, New York.
- SZENTESI, A. y JERMY, T., 1985: Antifeedants of the Colorado potato beetle: an overview and outlook, 17-27, en D. N. Ferro y R. Vood. Edits. Proceeding of the Symposium on the Colorado Potato Beetle. Massachusetts Agricultural Experiment Station, Univ. de Massachusetts, *Amherst, Res. Bull.*, **704**.
- VAN BEEK, T. A. y 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.