

## Actividad antialimentaria de extractos de *Daphne gnidium* L. y *Anagyris foetida* L. sobre *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae)

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, ácido clorhídrico al 3 %.

Mediante un test de selección, en el que se emplearon discos vegetales procedentes de hojas de lechuga, alojados en placas de Petri, se ha valorado la capacidad antialimentaria de diferentes dosis de cada extracto frente a larvas del quinto estadio de *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae).

De acuerdo con el análisis de los resultados obtenidos, las dosis de 40 y 30 µg/cm<sup>2</sup>, de ambos extractos, ejercen un satisfactorio grado de inhibición de la alimentación sobre este noctuido.

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

**Palabras clave:** *Anagyris foetida* L., efecto antialimentario, *Daphne gnidium* L., extractos, *Spodoptera littoralis* (Boisd.).

### INTRODUCCION

La rosquilla negra, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lep.: Noctuidae), es una plaga polífaga, ampliamente distribuida a nivel mundial; este hecho, junto a la facilidad con que se puede criar en insectarios, ha hecho que sus larvas se hayan utilizado en multitud de bioensayos, relacionados con el screening de insecticidas.

Dentro de la investigación con sustancias con carácter antialimentario, este lepidóptero constituye lo que podíamos llamar una «especie de referencia», como se pone de manifiesto en la amplia bibliografía existente, ASCHER *et al.*, 1984 y 1987; BELLES *et al.*, 1985; FRITZ *et al.*, 1989 y PÉREZ *et al.*, 1992, entre otras referencias.

Por otra parte, se ha comprobado que algunos herbicidas empleados en el cultivo de al-

falfa ejercen, a su vez, un efecto antialimentario sobre las larvas (MEISNER *et al.*, 1987).

Como indica SCHMUTTERER (1988), pensamos que los antialimentarios pueden jugar un importante papel dentro del marco del control integrado de plagas, motivo por el que hemos realizado una serie de pruebas sistemáticas de laboratorio con extractos vegetales y diferentes especies de insectos, dentro de las que se encuadran aquellas que dan base al presente trabajo.

### MATERIAL Y METODOS

Las observaciones de campo y algunos usos seculares de las plantas conocidas en Andalucía Occidental como «torvisco» (*Daphne gnidium*) y «hediondo» (*Anagyris foetida*), pertenecientes a las familias Thy-

melaeeaceae y Papilionaceae, respectivamente. (Figuras 1 y 2).

El torvisco se recolectó en las cuadrículas con cordenasadas UTM: 30STG3832 y 30STG3833, en el término municipal de Dos Hermanas (Sevilla), a comienzos de noviembre. El hediondo se recogió en la cuadrícula con coordenadas UTM: 30STF7169, dentro del término municipal de Prado del Rey (Cádiz). El secado de ambas plantas se realizó al aire libre.

Los extractos A y B, procedentes de *Daphne* y *Anagyris*, respectivamente, se realizaron a partir de 20 g hojas trituradas.

El extracto A, que contenía compuestos cumarínicos, derivados flavónicos, taninos y resinas, se obtuvo mediante una extracción sólido-líquido en continuo, utilizando como disolvente etanol de 96°.

El extracto B, se obtuvo con 300 ml de una disolución acuosa de ácido clorhídrico al 3 %, en un baño de agua, sin sobrepasar

los 45° de temperatura, con agitación continua. En el filtrado, se detectó la presencia de alcaloides (citisina y anagirina) y malato cálcico.

En ambos casos, mediante la acción del rotavapor, se llevaron las muestras a sequedad, para poder fijar las concentraciones de las disoluciones que fueron ensayadas.

En el caso A, la masa alquitranosa obtenida, se disolvió inicialmente en una mezcla que contenía cuatro partes de acetona y una de agua. De esa disolución patrón, se tomaron distintas alícuotas que, previa disolución al 50 % en acetona, constituyeron las cuatro disoluciones finales que fueron ensayadas.

Del extracto B, se tomó una alícuota que fue diluida, a la mitad, en acetona. A partir de dicha solución patrón, empleando nuevamente acetona, se obtuvieron las cuatro disoluciones finales que fueron aplicadas.

El uso de discos vegetales en tests de selección, resulta ser el sistema de valoración



Fig. 1.—Ejemplar de *Daphne gnidium* en floración.



Fig. 2.—Planta de *Anagyris foetida* con frutos.

más idóneo, como indican CHAPMAN y BERNAYS (1989); por tanto, de cada una de las cuatro disoluciones finales obtenidas a partir de cada extracto, se tomaron 10  $\mu$ l con una microjeringa, que fueron repartidos uniformemente por el haz de los 4 discos vegetales (DT), de 1 cm<sup>2</sup> de superficie, que se alternaban con otros cuatro de control (DC), sobre los que, análogamente, se extendió el mismo volumen de acetona. Cada grupo de ocho discos se encontraba alojado en el interior de una caja de Petri, de 8,5 cm de diámetro.

Una vez evaporado el líquido extendido sobre los discos, se colocaron, en el centro de cada placa, 5 larvas de Spodoptera que acababan de mudar al quinto estadio (Figura 3).

Los insectos procedían de cultivos de alfalfa situados en el término municipal de Dos Hermanas (Sevilla) (Figuras 4 y 5).

Durante el desarrollo del test, se fueron midiendo las superficies consumidas de los DT y DC, a diferentes tiempos. Con los datos obtenidos, se calculó el índice FR<sub>50</sub> (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 lechuga carentes de nerviación gruesa, tras haber lavado cuidadosamente 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. El tiempo empleado por las larvas en consumir el 50 % de la superficie de los discos de control estuvo comprendido entre 2,5 y 3,5 horas.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Tras haber realizado 12 repeticiones con cada dosis, los resultados obtenidos aparecen en el Cuadro 1.



Fig. 3.—Aspecto de una placa del test de selección.

Cuadro 1.-Resultados de las 12 repeticiones con cada dosis

Extracto	Dosis ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	FR <sub>50</sub> $\pm$ SEM
A	40	0,32 $\pm$ 0,08
A	30	0,40 $\pm$ 0,03
A	20	0,62 $\pm$ 0,15
A	10	0,98 $\pm$ 0,13
B	40	0,27 $\pm$ 0,04
B	30	0,36 $\pm$ 0,07
B	20	0,51 $\pm$ 0,16
B	10	0,93 $\pm$ 0,21

SEM es la desviación estándar de la media.



Fig. 4.-Larva de *Spodoptera* sobre alfalfa.

La representación gráfica de estos resultados aparece en las Figuras 6 y 7.

– Las dosis de 40 y 30  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  de ambos extractos ejercen un efecto antialimentario bastante satisfactorio, teniendo en cuenta que se parte de extractos no purificados. En los cuatro casos, los valores del  $\text{FR}_{50}$  son inferiores a 0,5, valor que se estima como indicativo.

– A concentraciones de 30 y 20  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , el extracto B se muestra, ligeramente, más activo frente a las larvas del noctuido.

– Ninguno de los dos extractos empleados a dosis muy bajas, de 10  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , parecen provocar un efecto estimulante de la alimentación, como ocurre con otros preparados antialimentarios.

– Lógicamente, estos estudios básicos de laboratorio deben tomarse como indicativos, debiéndose contrastar con ensayos de campo. Asimismo, además de emprender el resto de pruebas de control inherentes al screening de los pesticidas, se debe poner especial énfasis en determinar si los citados



Fig. 5.—Almacenamiento de los fardos de alfalfa; sobre el suelo del remolque, aparece un elevado número de larvas de «rosquilla negra».

extractos vegetales logran habituar rápidamente a las larvas de esta especie, disminuyendo la protección del cultivo, como ocurre con otros preparados antialimentarios aplicados contra otras especies polífagas, según señala JERMY (1990).

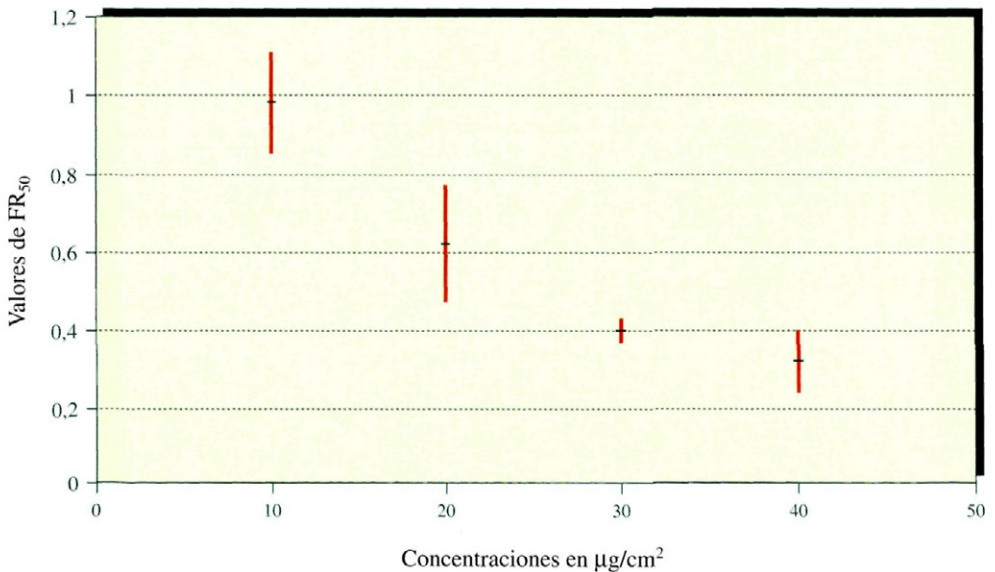


Fig. 6.—Representación gráfica de los valores medios de FR obtenidos con el extracto A.

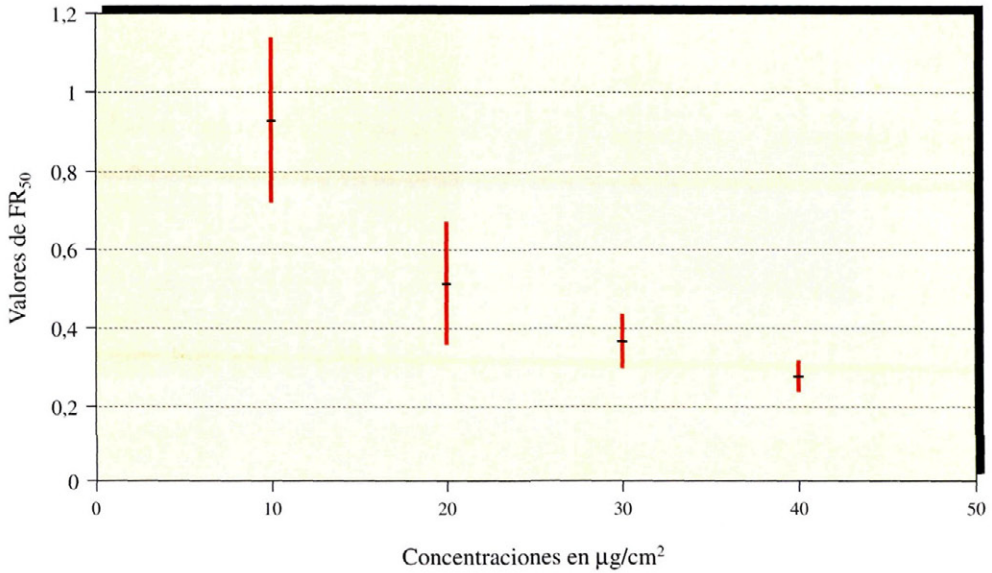


Fig. 7.—Representación gráfica de los valores medios de FR obtenidos con el extracto B.

#### ABSTRACT

PÉREZ IZQUIERDO, M. A. y OCETE, R., 1994: Actividad Antialimentaria de extractos de *Daphne gnidium* L. y *Anagyris foetida* L. sobre *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**(3): 623-629.

From dried leaves of *Daphne gnidium* L. and *Anagyris foetida* L. two kinds of extracts have been obtained; independently, their antifeedant activities have been evaluated by choice tests, using the leaf-disc method, on fifth instar larvae of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lep.: Noctuidae).

According to the data obtained, the doses of 40 and 30 µg/cm<sup>2</sup> of both extracts are sufficiently effective.

**Key words:** *Anagyris foetida* L., antifeedant activity, *Daphne gnidium* L., extracts, *Spodoptera littoralis*.

## REFERENCIAS

- ANTONIOUS, A. G. y SAITO, 1981: Mode of action of antifeeding compounds in the larvae of the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (F.) (Lep. Noctuidae). I. 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. y SCHMUTTERER, H., 1987: The antifeedant effect of some withanolides on three insect species, *Spodoptera littoralis*, *Epilachna varivestis* and *Tribolium castaneum*. *Phytoparasitica*, **15**(1): 15-29.
- ASCHER, K. R. S.; ELIYAHU, M.; GLOTTER, E.; KIRSON, I. y 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.
- BELLES, X.; CAMPS, F.; COLL, J. y PIULACHS, M. D., 1985: Insect antifeedant activity of clerodane against larvae of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera). *J. Chem. Ecol.*, **11**: 1.439-1.435.
- CHAPMAN, R. F. y BERNAYS, E. A., 1989: Insect behavior at the leaf surface and learning as aspects of host plant selection. *Experientia*, **45**: 215-222.
- FRITZ, G. L.; MILLS, G. D.; WARTHEN, J. D. y WATERS, R. M., 1989: Reimer-Tiemann adduct as potential insect antifeedant agents. *J. Chem. Ecol.*, **15**(12): 2.607-2.623.
- JERMY, T., 1990: Prospects of antifeedant approach to pest control- A critical reaview. *J. Chem. Ecol.*, **16**(11): 3.151-3.166.
- MEISNER, J.; LIFSCHITZ, N. y ASCHER, K. R. S., 1987: Antifeedant properties of herbicides against *Spodoptera littoralis* larvae (Lepidoptera: Noctuidae), with special reference to pronamide. *J. Econ. Entomol.*, **80**: 724-727.
- 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.
- SCHMUTTERER, H., 1988: Potential of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. *J. Insect Physiol.*, **7**: 713-719.