

## Actividad de *Trichilia havanensis* Jacq. (Meliaceae) sobre larvas de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae)

J. F. LÓPEZ-OLGUÍN, F. BUDIA, P. CASTAÑERA y E. VIÑUELA

Larvas neonatas de *Spodoptera littoralis* se alimentaron, hasta su pupación, con una dieta artificial de noctuidos a la que se agregó fruto seco pulverizado de *Trichilia havanensis* al 1 y 5%, y se evaluó el efecto sobre la mortalidad, el peso y el desarrollo de las larvas. La mortalidad de las larvas alimentadas con dieta al 5% de *T. havanensis* fue significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) que la registrada en dieta al 1% y que la de las larvas testigo. La ingestión de dieta con *T. havanensis* (1 y 5%), indujo una reducción significativa del peso de las larvas y un importante retraso en su desarrollo.

J. F. LÓPEZ-OLGUÍN: Dpto. de Inv. en Cs. Agrícolas. I.C.B.U.A.P. Apdo. post. 1292, Puebla, 72000. Puebla, México. Domicilio actual: Centro de Investigaciones Biológicas, C.S.I.C., Velázquez 144, 28006. Madrid, España.

F. BUDIA, E. VIÑUELA: Unidad de Protección de Cultivos, E.T.S.I. Agrónomos, 28040. Madrid, España.

P. CASTAÑERA: Centro de Investigaciones Biológicas, C.S.I.C. Velázquez 144, 28006. Madrid, España.

**Palabras clave:** *Meliaceae*, *Trichilia havanensis*, *Lepidoptera*, *Noctuidae*, *Spodoptera littoralis*, compuestos naturales.

### INTRODUCCIÓN

*Trichilia havanensis* Jacq. es un árbol de la familia de las meliáceas con distribución en regiones tropicales de México, Islas del Caribe, América Central, Colombia y Venezuela (PENNINGTON, 1981). La comunidad Nahuatl-Totonaca de la Sierra Norte de Puebla, México, utiliza el fruto de *T. havanensis* en la agricultura tradicional para proteger la semilla de maíz durante la germinación del ataque de insectos, aves y roedores. Las hojas son utilizadas para repeler a los insectos que dañan al grano en el almacén.

Las plantas de la familia de las meliáceas se caracterizan por producir diversos metabolitos secundarios, principalmente limonoides (TAYLOR, 1981), muchos de los cuales han mostrado actividad biológica contra insectos (CHAMPAGNE *et al.*, 1992). *Azadirachta indica* A. Juss. y *Melia azedarach* L.

son las meliáceas más estudiadas debido fundamentalmente a la obtención de la azadiractina y otros limonoides relacionados con actividad antialimentaria, efecto regulador del desarrollo y/o actividad tóxica contra insectos. De los limonoides aislados del fruto de *T. havanensis* (CHAN *et al.*, 1973; ARENAS Y RODRÍGUEZ, 1990), solamente la azadirona obtenida originalmente de *M. azadirachta* (LAVIE *et al.*, 1971), se ha informado que tiene actividad contra insectos (CHAMPAGNE *et al.*, 1992).

Considerando el amplio potencial de utilización de los compuestos aislados de meliáceas en el control integrado de plagas agrícolas, así como los antecedentes de uso del fruto de *T. havanensis* para el control de plagas del maíz en México, se planteó realizar un ensayo preliminar para confirmar la

actividad biológica del fruto de esta planta, utilizando como insecto de referencia a *Spodoptera littoralis* (Boisduval). De acuerdo con lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto por ingestión de fruto seco pulverizado de *T. havanensis* incorporado a la dieta, sobre la mortalidad y el desarrollo larvario de *S. littoralis*.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material vegetal

Se recolectó fruto en estado de madurez de *T. havanensis* (fig. 1), en julio de 1994 en Puebla, México, entre las coordenadas 20° 6' y 20° 8' de LN y entre los 97° 27' y 97° 29' de LO. Se dejó secar a la sombra y posteriormente se pulverizó en un molino marca Culatti usando un tamiz de 1,5 mm.

### Cría de insectos

Se emplearon larvas neonatas de *S. littoralis* eclosionadas en las últimas 12 horas, procedentes de la cría de laboratorio de la Unidad de Protección de Cultivos de la E.T.S.I. Agrónomos de Madrid, cuyas larvas se alimentaban con una dieta modificada de la propuesta para noctuidos por POITOUT & BUES (1974), al añadirle alfalfa molida. Los adultos se alimentaban a base de agua con miel de abeja al 10% (MARCO *et al.*, 1994). Las condiciones de cría fueron de 25 ± 2 °C, 75 ± 5% de HR y fotoperíodo de 16:8 horas luz:oscuridad.

### Diseño experimental

Los tratamientos utilizados fueron:

- *Dieta testigo*. Para este fin, se utilizó la dieta de cría mencionada anteriormente.
- *Dieta con 1% de T. havanensis*. A los componentes de la dieta testigo se adicionaron dos gramos (para 200 gramos de dieta),



Fig. 1.—Rama de un árbol de *T. havanensis* con frutos maduros.

del producto vegetal. El agua con el agar y formaldehído se llevó a ebullición y una vez que esta mezcla se había enfriado a unos 50 °C, se incorporó el producto vegetal junto con los demás ingredientes de la dieta.

- *Dieta con 5% de T. havanensis*. Se preparó de igual manera que la dieta anterior, con la diferencia de que en este caso se adicionaron 10 gramos del producto vegetal.

La unidad experimental consistió en una caja cilíndrica de plástico con tapa de 12 cm de diámetro por 5 cm de altura con papel filtro en la base, donde se colocó dieta *ad-libitum* del tratamiento respectivo y 10 larvas de *S. littoralis* eclosionadas en las últimas 12 horas. Se consideraron 5 repeticiones por tratamiento, por lo que se contó con 50 larvas para cada tipo de dieta. Las unidades experimentales se colocaron completamente al azar dentro de una cámara mantenida en las condiciones ambientales indicadas anteriormente para la cría.

Durante el período del ensayo se realizaron observaciones diariamente para la detección de las cápsulas cefálicas indicadoras de la muda y el correspondiente registro del desarrollo larvario. Cada tres días se cambió la dieta, se registró el número de larvas muertas y se obtuvo el peso medio de las larvas vivas por unidad experimental.

### Análisis estadístico

Para los porcentajes de mortalidad y el peso promedio de las larvas vivas a los diferentes tiempos de iniciado el ensayo, se realizaron las pruebas de hipótesis sobre normalidad (test de Kolmogorov-Smirnoff sobre los residuos) y de homogeneidad de varianzas (test de Bartlett). Cuando ambas hipótesis se cumplieron se realizó la prueba F del ANOVA ( $p \leq 0.05$ ) y la comparación múltiple de medias mediante el método de Tukey (STEEL & TORRIE, 1960). En el caso de normalidad con heterogeneidad de varianzas (peso promedio de las larvas), se aplicó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0.05$ ) y las medianas se compararon de acuerdo al procedimiento propuesto por Dunn ( $p \leq 0.10$ ), (GIBBONS, 1985).

El efecto sobre el desarrollo de *S. littoralis* se representó gráficamente en base al registro diario del número de individuos de cada estadio y/o estado en cada tipo de dieta.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto sobre mortalidad

En el cuadro 1 se presenta la mortalidad media acumulada en el tiempo por tipo de dieta y estadio larvario. En todas las evaluaciones, el porcentaje de mortalidad registrado en dieta con 5% de *T. havanensis* fue significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ), que el observado en dieta testigo y dieta al 1%, registrándose a los 6 y 9 días de iniciado el ensayo 94 y 98% de mortalidad respectivamente. En este tiempo, en dieta al 1% la

mortalidad media fue del 24 y 36%, valores que no difirieron significativamente de los del testigo (18 y 26%). La mortalidad de larvas en dieta con 1% de *T. havanensis* fue similar a la registrada en la dieta testigo hasta los 21 días, momento en el que en larvas testigo se había alcanzado la mortalidad máxima y el resto de los individuos se encontraban ya en estado de pupa; mientras que en dieta al 1% del producto vegetal aun había larvas y la mortalidad seguía incrementándose. En dieta con 5% de *T. havanensis*, sólo una larva pasó a segundo estadio y murió en éste a los 16 días, en tanto que en dieta al 1%, la última larva murió a los 51 días en quinto estadio.

Los datos indican que el producto vegetal incorporado a la dieta en proporción del 5%, tiene efecto tóxico sobre las larvas de *S. littoralis*, ya que desde la primera evaluación realizada a los tres días de iniciado el ensayo, se registró un 48% de mortalidad, que se incrementó a 94% tres días después. En cambio, la incorporación de 1% de *T. havanensis* en la dieta, no provocó mortalidad significativamente diferente a la observada en la dieta testigo, durante el periodo normal de desarrollo larvario de *S. littoralis* (15 días).

### Efecto sobre el peso

Para el análisis del efecto del tipo de dieta sobre el peso de las larvas, se consideraron los datos registrados hasta la quinta evaluación (15 días), ya que las larvas alimentadas con dieta testigo iniciaron el período de prepupa a los 16 días y a los 18 la mayoría había pasado al estado de pupa. Por otra parte, debido a la alta mortalidad registrada en dieta con 5% de *T. havanensis*, el peso medio en la segunda evaluación (6 días), se calculó en base al peso de 3 larvas y a partir del noveno día el peso corresponde al de una larva, puesto que ya habían muerto las 49 restantes.

En todas las evaluaciones el peso medio larvario en dieta al 5% de *T. havanensis* fue significativamente menor que el peso medio

Cuadro 1.-Porcentaje de mortalidad media acumulada ( $\pm$  error estándar) en *Spodoptera littoralis*, por tipo de dieta y estadio larvario

Días	Dietas (1)	Mortalidad (2) $\pm$ ES	Mortalidad por estadio larvario					
			L1	L2	L3	L4	L5	L6
3	T	8 <sup>a</sup> $\pm$ 3.7	8					
	1%	18 <sup>a</sup> $\pm$ 7.3	18					
	5%	48 <sup>b</sup> $\pm$ 8.6	48					
6	T	18 <sup>a</sup> $\pm$ 2.0	14	4				
	1%	24 <sup>a</sup> $\pm$ 8.7	24					
	5%	94 <sup>b</sup> $\pm$ 4.0	94					
9	T	26 <sup>a</sup> $\pm$ 2.4	16	10				
	1%	36 <sup>a</sup> $\pm$ 5.1	26	10				
	5%	98 <sup>b</sup> $\pm$ 2.0	98					
12	T	28 <sup>a</sup> $\pm$ 2.0	16	12				
	1%	42 <sup>a</sup> $\pm$ 5.8	30	12				
	5%	98 <sup>b</sup> $\pm$ 2.0	98					
15	T	32 <sup>a</sup> $\pm$ 2.0	16	12	4			
	1%	46 <sup>a</sup> $\pm$ 4.0	30	16				
	5%	98 <sup>b</sup> $\pm$ 2.0	98					
18	T	32 <sup>a</sup> $\pm$ 2.0	16	12	4			
	1%	46 <sup>a</sup> $\pm$ 4.0	30	16				
	5%	100 <sup>b</sup> $\pm$ 0.0	98	2				
21	T	34 <sup>a</sup> $\pm$ 2.4	16	12	4	2		
	1%	52 <sup>a</sup> $\pm$ 7.3	30	20	2			
	5%	100 <sup>b</sup> $\pm$ 0.0	98	2				
24	T	34 <sup>a</sup> $\pm$ 2.4	16	12	4	2		
	1%	56 <sup>b</sup> $\pm$ 6.8	30	20	4			
	5%	100 <sup>c</sup> $\pm$ 0.0	98	2				
27	T	34 <sup>a</sup> $\pm$ 2.4	16	12	4	2		
	1%	60 <sup>b</sup> $\pm$ 5.5	30	22	8			
	5%	100 <sup>c</sup> $\pm$ 0.0	98	2				
30	T	34 <sup>a</sup> $\pm$ 2.4	16	12	4	2		
	1%	68 <sup>b</sup> $\pm$ 5.8	30	22	14	2		
	5%	100 <sup>c</sup> $\pm$ 0.0	98	2				
33	T	34 <sup>a</sup> $\pm$ 2.4	16	12	4	2		
	1%	70 <sup>b</sup> $\pm$ 5.5	30	22	14	4		
	5%	100 <sup>c</sup> $\pm$ 0.0	98	2				
36	T	34 <sup>a</sup> $\pm$ 2.4	16	12	4	2		
	1%	74 <sup>b</sup> $\pm$ 4.0	30	22	16	6		
	5%	100 <sup>c</sup> $\pm$ 0.0	98	2				
51	T	34 <sup>a</sup> $\pm$ 2.4	16	12	4	2		
	1%	100 <sup>b</sup> $\pm$ 0.0	30	22	18	22	8	
	5%	100 <sup>b</sup> $\pm$ 0.0	98	2				

(1) T = Testigo, 1 y 5% = Dietas con esta concentración de *T. havanensis*.

(2) Medias (n = 5 repeticiones) seguidas de la misma letra, dentro de cada fecha, no difieren significativamente. Prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

de las larvas testigo y no difirió de manera significativa del peso en dieta con 1% de *T. havanensis* (cuadro 2). En los tratamientos con 1 y 5% de *T. havanensis* se registró reducción del peso de larvas en relación al peso en el testigo de 49 y 78% respectivamente a los tres días, que se incrementó a 82 y 97% a los 6 y al 99%, en ambos tipos de dieta, a los 12 días de iniciado el ensayo.

Estos resultados sugieren que el fruto de *T. havanensis* incorporado a la dieta provoca un efecto antialimentario en las larvas de *S. littoralis*, mas claramente observado en dieta con 1% del producto, donde el incremento de mortalidad no fue significativo hasta los 21 días, aunque se registró una reducción significativa del peso medio de las larvas a partir del noveno día. Estos resultados concuerdan con los de XIE *et al.* (1994), quienes al incorporar 0.2% de extracto etanólico de hojas y corteza de *T. havanensis* a la dieta larvaria de *Peridroma saucia* Hübner observaron una reducción significativa del peso, mientras que cuando adicionaron a la dieta la misma cantidad de extracto de

madera, el peso medio de las larvas no se vio significativamente afectado 10 días después de iniciado el ensayo.

A los 15 días se observó un notable retraso en el desarrollo de las larvas alimentadas con dieta tratada (fig. 2), que se reflejó en una reducción considerable de su peso (99%), respecto al peso medio de las larvas testigo.

### Efecto sobre el desarrollo

El efecto sobre el desarrollo de *S. littoralis* se representó gráficamente en base al registro diario del número de larvas de cada estadio en los distintos tipos de dieta. En la gráfica de desarrollo en el tiempo (fig. 3), las líneas horizontales inician cuando apareció la primer larva de ese estadio y termina en el tiempo que la mayoría había mudado al siguiente. En esta figura se observa que la ingestión de dieta con *T. havanensis* ocasionó un notable retraso de la muda en los estadios larvarios de *S. littoralis*, que en conjunto

Cuadro 2.—Peso medio ( $\pm$  error estándar), a lo largo del tiempo, de las larvas vivas de *Spodoptera littoralis* alimentadas con distintas dietas

Días	Dietas	Peso (mg) <sup>(1)</sup> $\pm$ ES
3	Testigo	0.55 <sup>a</sup> $\pm$ 0.07
	1% <i>T. havanensis</i>	0.28 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.03
	5% <i>T. havanensis</i>	0.12 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.03
6	Testigo	3.87 <sup>a</sup> $\pm$ 0.90
	1% <i>T. havanensis</i>	0.69 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.09
	5% <i>T. havanensis</i>	0.10 <sup>b</sup> $\pm$ 0.00
9	Testigo	30.95 <sup>a</sup> $\pm$ 7.78
	1% <i>T. havanensis</i>	1.53 <sup>b</sup> $\pm$ 0.34
	5% <i>T. havanensis</i>	0.30 <sup>b</sup> $\pm$ 0.00
12	Testigo	214.79 <sup>a</sup> $\pm$ 49.29
	1% <i>T. havanensis</i>	3.00 <sup>b</sup> $\pm$ 0.72
	5% <i>T. havanensis</i>	0.30 <sup>b</sup> $\pm$ 0.00
15	Testigo	571.59 <sup>a</sup> $\pm$ 71.25
	1% <i>T. havanensis</i>	2.83 <sup>b</sup> $\pm$ 0.63
	5% <i>T. havanensis</i>	0.30 <sup>b</sup> $\pm$ 0.00

(1) Medias (n = 5 repeticiones) seguidas de la misma letra, dentro de cada fecha, no difieren significativamente. Método de Dunn (p  $\leq$  0.10).





Fig. 2.—Larvas de *S. littoralis* alimentadas en dieta testigo (izquierda), dieta con 1% de *T. havanensis* (superior derecha) y en dieta con 5% de *T. havanensis* (inferior derecha).

provocaron un importante retraso en el desarrollo, muriendo todas las larvas sin llegar a pupar. En dieta con 5% de *T. havanensis* la última larva murió a los 16 días en L<sub>2</sub>, cuando en la dieta testigo la mayoría de las larvas se encontraba en sexto estadio próximas a pupar. En este tiempo las larvas alimentadas con dieta al 1% del producto, se encontraban en L<sub>2</sub> y L<sub>3</sub> y de estas únicamente cuatro larvas llegaron a L<sub>5</sub>, muriendo la última a los 51 días en este nivel de desarrollo.

Los resultados de este estudio aportan evidencia de que el fruto de *T. havanensis* incorporado a la dieta tiene efecto por ingestión sobre el desarrollo larvario de *S. littoralis*. El resultado de alta mortalidad en dieta al 5%, reducción significativa del peso y marcado retraso del desarrollo en la dieta con 1% del producto, indican que el fruto de *T.*

*havanensis* contiene compuestos activos sobre el estado larvario de *S. littoralis*. Del extracto acetónico (CHAN *et al.*, 1973) y del extracto hexánico (ARENAS Y RODRÍGUEZ-HAHN, 1990) del fruto de *T. havanensis* se han aislado diversos compuestos del grupo de los limonoides, también conocidos como meliacinas o tetranortriterpenoides, de los cuales la azadirona se ha informado que tiene actividad antialimentaria contra *Epilachna varivestis* (CHAMPAGNE *et al.*, 1992); los demás compuestos no se han estudiado en ensayos de actividad contra insectos.

En base a los resultados de este estudio, consideramos importante continuar los trabajos con el fruto de *T. havanensis* para la extracción e identificación de los compuestos activos, definir el tipo de actividad biológica y modo de acción, así como para evaluar su

efecto sobre parámetros de viabilidad, desarrollo, fertilidad y fecundidad en distintas especies de insectos de interés agrícola.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado gracias a una beca de superación académica otorgada a J. López Olguín por el programa SUPERA de la ANUIES en convenio con la BUAP, México, D.F.. Fue financiado por la Unidad de Protección de Cultivos de la E.T.S.I. Agrónomos de la U.P.M. y el C.I.B. del C.S.I.C. de Madrid, España. Agradecemos a Pedro del Estal y a Agustín Aragón su apoyo para la realización del mismo.

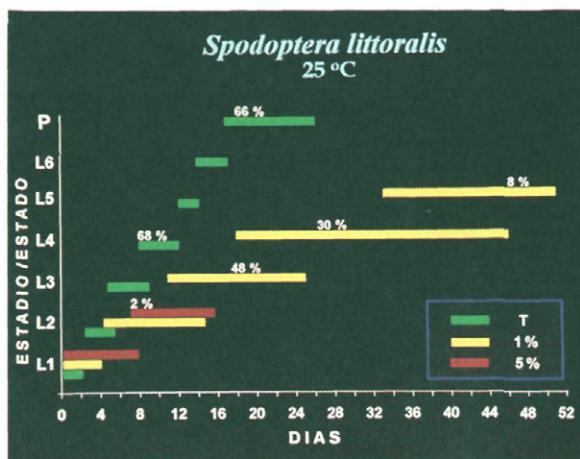


Fig. 3.—Desarrollo larvario de *S. littoralis* en cada tipo de dieta.

## ABSTRACT

LÓPEZ-OLGUÍN, J. F.; BUDÍA, F.; CASTAÑERA, P. y VIÑUELA, E., 1997: Effects of *Trichilia havanensis* Jacq. (Meliaceae) on *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Bol. San. Veg. Plagas*, **23**(1): 3-10.

Neonate larvae of *Spodoptera littoralis* were fed until pupation with an artificial diet of noctuids, containing 1 and 5% of grounded dried fruits of *Trichilia havanensis*. The effects on mortality, weight and larval development were evaluated. Larval mortality of the population reared on diet with 5% of *T. havanensis* was significantly higher than those fed on either 1% diet or the control. Moreover, a significant reduction on larval weight and on the development was found in those larvae reared on diets with 1 and 5% of *T. havanensis*.

**Key words:** Meliaceae, *Trichilia havanensis*, Lepidoptera, Noctuidae, *Spodoptera littoralis*, natural products.

## REFERENCIAS

- ARENAS, C. y RODRÍGUEZ-HAHN, L., 1990: Limonoids from *Trichilia havanensis*. *Phytochemistry*, **29**(9): 2953-2956.
- 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 Trichilinone, New Tetracarbo-cyclic Tetranortriterpenes. J. C. S. Perkin I, 1047-1050.
- GIBBONS, J. D., 1985: *Nonparametric Methods for Quantitative Analysis* (Second Edition). American Sciences Press, Inc. Columbus, Ohio, U.S.A. 481 pp.
- LAVIE, D., LEVY, E. C. y JAIN, M. K., 1971: Limonoids of biogenetic interest from *Melia azadirachta* L. *Tetrahedron*, **27**: 3927-3939.
- MARCO, V.; DEL ESTAL, P.; BUDIA, F.; ADAN, A., JACAS, J. y VIÑUELA, E. 1994: Efectos del RCI hexaflumurón, sobre larvas de último estadio de *Spodoptera exigua*. Comparación de la actividad por contacto e ingestión. *Bol. San. Veg. Plagas*, **20**: 389-399.
- PENNINGTON, T. D., 1981: *Flora Neotropica; monograph 28: A monograph of neotropical Meliaceae*. The New York Botanical Garden, N. Y.: 462 pp.
- POITOUT, S. y BUES, R., 1974: Elevage de chenilles de vingt-huit espèces de lépidoptères Noctuidae. *Ann. Zool. Ecol. Anim.*, **6**(3): 341-411.

STEEL, R. G. D. y TORRIE, J. H., 1960: *Principles and Procedures of Statistics; with special reference to the biological sciences*. McGraw- Hill Book Company Inc. U. S. A. 481 pp.

TAYLOR, D. A. H., 1981: Chemotaxonomy: The occurrence of limonoids in the Meliaceae. In: *Flora Neotropica*. A monograph of neotropical Meliaceae, Pennington, T. D., Ed., pp. 450-459. The New York Botanical Garden, N. Y. 462 pp.

XIE, Y. S.; ISMAN, M. B.; GUNNING, P.; MACKINNON, S.; ARNASON, J. T.; TAYLOR, D. R.; SÁNCHEZ, P.; HASBUN, C. y TOWERS, G. H. N., 1994: Biological activity of extracts of *Trichilia* species and the limonoid Hirtin against Lepidopteran larvae. *Bioch. Syst. and Ecol.*, **22**(2): 129-136.

(Aceptado para su publicación: 11 septiembre 1996)