

Caracterización de la actividad antialimentaria de extractos de frutos y semillas de *Melia azedarach* L. y de *Azadirachta indica* A. sobre larvas del lepidóptero *Sesamia nonagrioides* Lef.

A. JOAN SERRA, A. SANS BADIA y M. RIBA VILADOT

Los extractos metanólicos de semillas y de frutos de *Melia azedarach* han mostrado una buena actividad antialimentaria frente a larvas de 2º estadio del lepidóptero noctuido *Sesamia nonagrioides*, plaga del maíz. Los productos a probar se introdujeron en la dieta artificial del insecto a concentraciones de 1000 y 2000 ppm. Los parámetros utilizados para el seguimiento de la experiencia fueron: evolución del peso medio de las larvas, incremento del peso medio de las larvas entre pesadas sucesivas, duración del periodo larvario, mortalidad acumulada, anormalidades de la muda, cantidad de alimento ingerido, cantidad de excrementos producidos, índice de fagodepresión/fagoestimulación y cantidad de tratamiento ingerido. El extracto de semillas ha mostrado una gran bioactividad a las dos concentraciones utilizadas. Utilizado la dosis alta (2000 ppm), dicha actividad resultó comparable a la mostrada por Azadiractina pura (1,25 ppm) y por un extracto comercial de «neem» de contrastada actividad (75 ppm). El extracto de frutos resultó ser menos activo, y tan solo ha mostrado cierta actividad biológica a la concentración mayor.

A. JUAN SERRA, A. SANS BADIA y M. RIBA VILADOT: Centro UdL-IRTA de R+D Alcalde Rovira Roure, 177. 25198 Lleida.

Palabras clave: *Melia azedarach*, *Azadirachta indica*, Meliaceae, *Sesamia nonagrioides*, Lepidoptera, Noctuidae, actividad antialimentaria, fagodepresión, azadiractina, extracto comercial de Meliaceae.

INTRODUCCIÓN

De la coevolución planta-insecto han resultado estrategias múltiples de defensa de las plantas. Una de ellas es la producción en los tejidos de las mismas de compuestos aleloquímicos, que pueden afectar al crecimiento y supervivencia de los insectos fitófagos (EHRICH y RAVEN, 1964), dichas sustancias interfieren en los mecanismos de comunicación de los insectos a nivel inter-específico (WHITTAKER, 1970). Dentro del grupo se incluye tanto a los modificadores del comportamiento de los insectos, por ejemplo compuestos antialimentarios o de-

terrentes (KOUL, O., 1982); como afectores fisiológicos, por ejemplo inhibidores de crecimiento de los insectos (REESE y HOLYOKE, 1987); o a compuestos químicos que poseen una combinación de ambas propiedades.

Muchas de las especies vegetales de la familia Meliaceae se caracterizan por poseer una buena bioactividad frente a numerosas tipos de insectos y ácaros. De entre todas ellas destaca *Azadirachta indica*, árbol de cuyo fruto se han comercializado o están en fase de registro determinados extractos con una contrastada efectividad en protección de cultivos (SCHMUTTERER y otros 1981, 1984 y 1989). Entre los numerosos principios ac-

tivos presentes en estos extractos, sin duda la azadiractina es el compuesto que presenta mayor bioactividad y un campo de acción más amplio (ARNASON y otros, 1989). Se trata de un compuesto tetranortriterpenoide de la familia de los limonoides, cuya estructura se conoce tras cuidadosos estudios desde 1987 (BROUGHTON y otros, 1987).

Melia azedarach es un árbol de la familia *Meliaceae*, originario del Asia Menor, pero hoy en día naturalizado en muchas regiones tropicales y subtropicales de Asia y África, además de extensas zonas de climatología cálida de América y sur de Europa (POLUNIN, 1989). En nuestro país se encuentra también bastante extendido y en concreto en la provincia de Lleida está presente en muchos centros urbanos, como árbol ornamental en calles, avenidas, parques o paseos.

Estudios preliminares realizados en nuestro laboratorio mostraron que extractos acuosos, metanólicos y acetónicos de frutos y semillas de este árbol presentaban actividad antialimentaria y actividad reguladora del crecimiento frente a varias plagas de insectos lepidópteros, coleópteros y heterópteros. En este contexto, el objetivo concreto planteado en este trabajo fue el de evaluar la bioactividad de extractos metanólicos de semillas y de frutos de este árbol frente a larvas de *S. nonagrioides*, insecto muy estudiado en nuestro Centro. Dicha actividad se ha contrastado con la manifestada por el extracto comercial de neem «Mubel», producto de actividad contrastada frente a lepidópteros y la Azadiractina, el principio más activo detectado en los extractos de neem.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cría de *S. nonagrioides*

La cría del insecto se llevó a cabo en nuestro laboratorio, siguiendo la metodología descrita por EIZAGUIRRE y ALBAJES (1992). Las larvas se alimentaron con una dieta artificial (POITOUT y BUES, 1974) hasta pupación. Tras la pupación los insectos se sexa-

ban y se guardaron individualmente en una cámara climática de cría, que trabajaba en condiciones de desarrollo continuo (16L:8O, 25 ± 2 °C) y 80% de humedad relativa. Los adultos emergentes eran utilizados para reproducción. Una parte de larvas de 2° estadio se separaban del resto para realizar las pruebas biológicas pertinentes.

Obtención del extracto de frutos y semillas de *M. azedarach*

La recolección de los frutos de *M. azedarach* se realizó en estado de madurez en el Campus de la ETSIA de la UdL, durante el mes de febrero del 1996. Una parte de los frutos recogidos se conservó intacta para la obtención del extracto correspondiente y con la otra se procedió a la extracción de semillas de su interior.

Los extractos de frutos y semillas se obtuvieron siguiendo la misma metodología, iniciándose con la trituración de las semillas y frutos a tamaño particular fino. Posteriormente se procedió a su desecación en estufa durante 20 h a 40 °C.

La extracción se realizaba siguiendo el método descrito por WARTHEN y otros (1984). En un erlenmeyer de 1000 ml se colocaban 50 g de material vegetal triturado y secado y 500 ml de metanol. Tras agitación durante tres horas, se dejaba en reposo una noche y se procedía a filtración con papel de filtro Whatman n.º 40. El residuo sólido se volvía a extraer siguiendo idéntico procedimiento y ambos extractos metanólicos se juntaban. El disolvente se eliminaba por evaporación al vacío en un rotavapor (20 Torr, 30 °C), obteniéndose un residuo granate-oscuro aceitoso y muy viscoso. Los rendimientos del proceso extractivo fueron del 15% para el extracto de frutos y del 1% para el extracto de semillas.

Pruebas biológicas de actividad

En todas las pruebas se procuró coger insectos de diferentes puestas para tener una

población representativa de las diferentes líneas que contenía el laboratorio. Para cada producto probado se utilizaron entre 15-25 larvas de *S. nonagrioides* de 2º estadio. La alimentación de las larvas se realizó durante 24 días con una dieta artificial a la que se había incorporado cada tratamiento. Posteriormente todas las larvas supervivientes se alimentaron con dieta no tratada.

Durante la elaboración de la dieta, la aportación de cada producto se hacía en forma de disolución acetónica a la concentración deseada. La dieta se cambiaba cada dos días, momento en que se aprovechaba para pesar a los insectos y realizar las observaciones pertinentes de los mismos. Todos los trozos de dieta suministrados eran idénticos (bloques cilíndricos de 1 cm de diámetro y 1 cm de altura). El bioensayo acabó cuando las larvas llegaron a estado adulto.

Los productos utilizados en cada tratamiento fueron: extracto de semillas de *M. azedarach* utilizado a 1000 y 2000 ppm, extracto de frutos de *M. azedarach* a dosis de 1000 y 2000 ppm, azadiractina (95%, Sigma) a concentraciones de 0,25 y 1,5 ppm y «Mubel» (extracto comercial de neem de 2% p/v de azadiractina, Fertimec, SL) empleado a 12,5 y 75 ppm.

Los resultados se han evaluado en relación a dos controles: el blanco donde los insectos se alimentaron con dieta no tratada y el testigo donde los insectos se alimentaron con dieta tratada con acetona.

Los parámetros estudiados en este bioensayo fueron:

- La evolución del peso de las larvas durante el bioensayo,
- El incremento relativo de peso medio durante el periodo comprendido entre dos pesadas sucesivas,
- La duración del periodo larvario,
- Las mudas anormales,
- La mortalidad acumulada hasta pupación,
- La cantidad de dieta fresca ingerida,
- La cantidad de excrementos producidos

- El índice de fagodepresión/estimulación, definido como:

$$(P_{i(f/s)}) = \frac{\Delta F(T)}{\Delta F(C)}$$

donde ΔF es la cantidad de dieta fresca ingerida en el tratamiento (T) y en el control (C)

- La cantidad de tratamiento químico ingerido por larva (I_q), estimado de la siguiente manera:

$$(I_q)_i = (\text{Conc.})_i \times \Delta F \dots (\mu\text{g})$$

donde $(\text{Conc.})_i = \mu\text{g}$ de producto i ingerido / g de dieta i $\Delta F =$ cantidad de dieta fresca ingerida (g).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

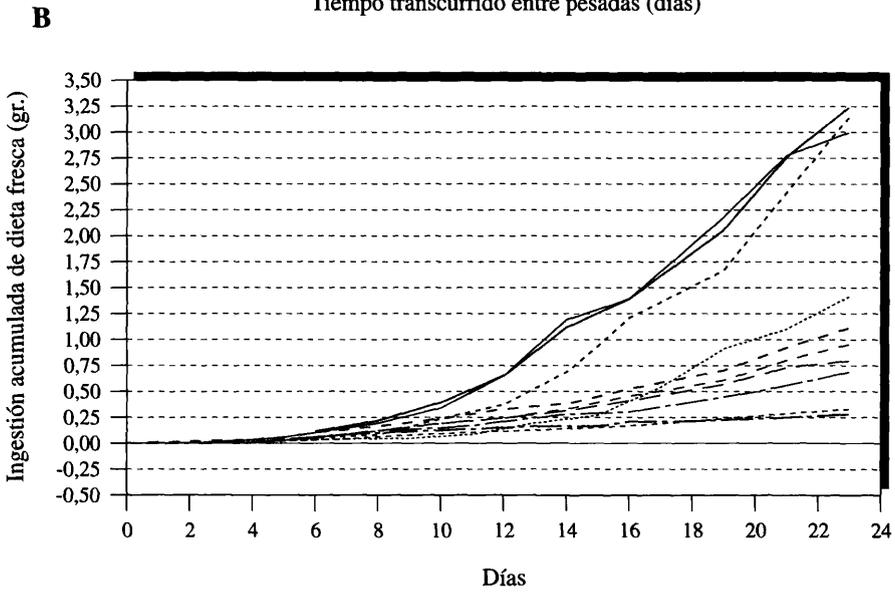
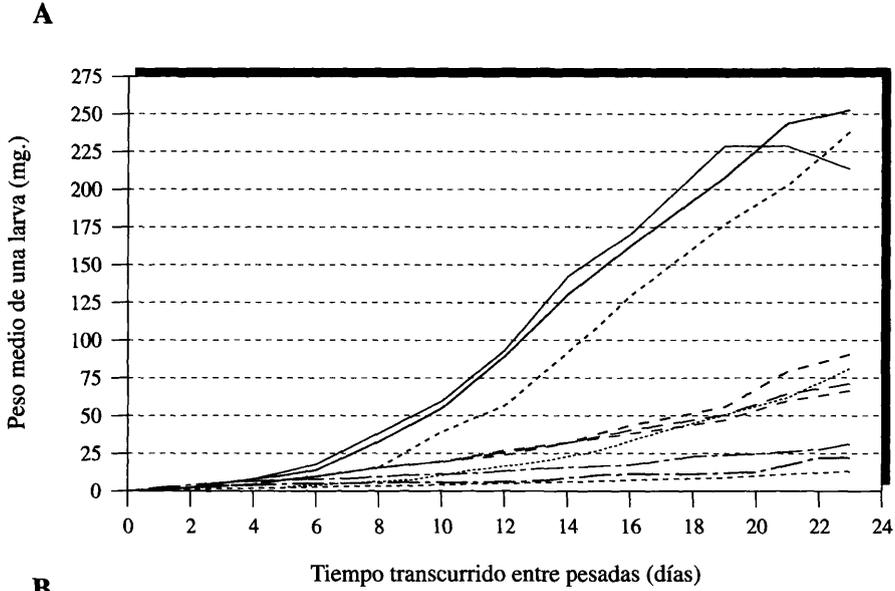
Evolución del peso de las larvas

En el cuadro 1 se muestran datos referentes a los pesos medios de las larvas al final del tratamiento (23 días) y a 10 días de evolución del post-tratamiento. En la figura 1 (A) se observa la evolución del valor medio de los pesos de las larvas alimentadas con las distintas dietas tratadas durante los 23 días.

Como puede verse, tanto las larvas del tratamiento blanco como las del testigo tienen la misma velocidad de crecimiento de lo que resulta que la acetona no tiene efecto alguno sobre el comportamiento alimentario de las larvas. De la observación de las curvas de crecimiento observamos tres tipos de comportamiento. El primer tipo sería el de las muestras control y el de extracto de frutos a dosis baja, que presentan un incremento progresivo y continuado de peso; la fracción que contenía 1000 ppm de extracto de frutos resultó ser poco activo, pues si bien en los primeros controles se detectaron diferencias significativas con los testigos en los pesos de las larvas, estas diferencias desaparecen al final y se observa para este tratamiento un comportamiento similar a los

Cuadro 1.-Evolución de peso medio y de la mortalidad de las larvas de *S. nonagrioides* durante (1) y después del tratamiento (2), ET, error típico; (n), número de medidas contabilizadas en el análisis. Para cada ensayo, las medias seguidas con la misma letra no son significativamente diferentes (Prueba LSD, $p < 0,05$)

Tratamiento	Peso por larva (mg) durante el tratamiento Media \pm ET (n)				Peso por larva (mg) después del tratamiento Media \pm ET (n)				% de mortalidad	
	5 días	10 días	15 días	25 días	30 días	(1)	(2)	(1)	(2)	
Blanco	12 \pm 1 d (15)	55 \pm 4 e (15)	146 \pm 12 d (15)	244 \pm 22 cd (13)	265 \pm 17 d (2)	0	0	0	0	
Testigo	13 \pm 2 d (14)	60 \pm 7 e (14)	155 \pm 14 d (14)	209 \pm 16 c (8)	176 \pm 0 cd (1)	7	13	7	13	
Azadiractina	0,25	8 \pm 1 c (15)	20 \pm 2 c (15)	38 \pm 4 b (15)	110 \pm 12 b (15)	0	0	0	0	
	1,50	8 \pm 1 c (14)	12 \pm 2 abc (14)	17 \pm 3 ab (13)	42 \pm 8 a (12)	20	20	20	20	
Mubel	12,5	8 \pm 1 c (15)	21 \pm 2 c (14)	35 \pm 3 b (14)	98 \pm 8 d (14)	7	13	7	13	
	75	5 \pm 1 b (13)	6 \pm 1 a (10)	11 \pm 4 ab (4)	22 \pm 1 a (2)	87	100	87	100	
Extracto de semillas	1.000	8 \pm 1 c (15)	19 \pm 3 bc (15)	37 \pm 4 b (15)	103 \pm 9 b (15)	0	0	0	0	
	2.000	2 \pm 1 a (15)	4 \pm 1 a (14)	6 \pm 1 a (13)	21 \pm 3 a (12)	20	20	20	20	
Extracto de frutos	1.000	7 \pm 1 c (15)	40 \pm 5 d (11)	109 \pm 11 c (11)	254 \pm 19 d (11)	27	27	27	27	
	2.000	3 \pm 01 ab (14)	11 \pm 1 ab (13)	27 \pm 3 ab (13)	119 \pm 9 b (13)	13	20	13	20	



- Blanco
- Testigo
- Azadiractina 1,5 ppm
- - - Azadiractina 0,25 ppm
- - - Mubel 75 ppm
- - - Mubel 12,5 ppm
- Extracto de frutos 2.000 ppm
- Extracto de frutos 1.000 ppm
- Extracto de semillas 2.000 ppm
- Extracto de semillas 1.000 ppm

Fig. 1.—Evolución para larvas alimentadas a partir de 2º estadio con los distintos tratamientos durante 23 días: (A) del peso medio, (B) de la ingestión acumulada de dieta fresca, y (C) de la cantidad de acumulada de excrementos.

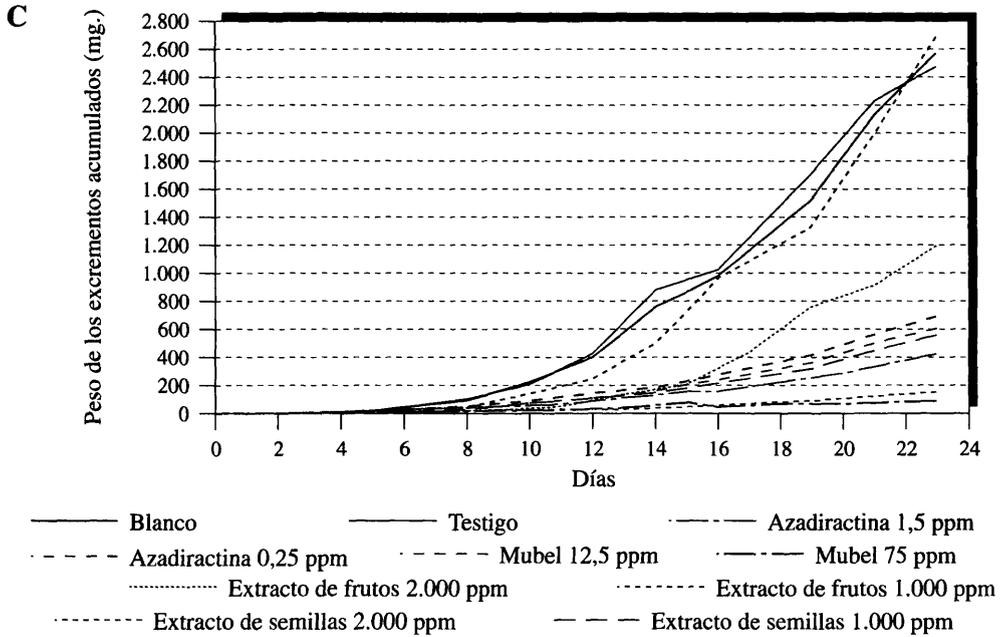


Fig. 1 (Continuación).—Evolución para larvas alimentadas a partir de 2ª estadio con los distintos tratamientos durante 23 días: (A) del peso medio, (B) de la ingestión acumulada de dieta fresca, y (C) de la cantidad de acumulada de excrementos.

controles. Un segundo bloque de productos con una actividad antialimentaria moderada fueron: la dosis baja de azadiractina (0,25 ppm), la dosis baja de «Mubel» (12,5 ppm), la dosis baja del extracto de semillas (1000 ppm) y la dosis alta del extracto de frutos (2000 ppm). Al ser alimentadas con dieta contaminada por estas fracciones las larvas mostraban pesos sensiblemente inferiores a los testigos a los 24 días de experiencia. Con todas las larvas supervivientes se recuperaban al sustituir la dieta tratada con dieta normal, experimentando una curva de crecimiento paralela a los controles y prácticamente todas ellas llegaban a la muda con un peso similar al de los controles, aunque a tiempo considerablemente superior. Finalmente cabe destacar un tercer grupo de productos más activos: la dosis alta de «Mubel» (75 ppm), Azadiractina (1,5 ppm) y el extracto de semillas a dosis de 2000 ppm. Con la fracción más activa, el «Mubel» a dosis

alta, las larvas no pudieron recuperarse con el cambio de dieta y murieron todas antes de la pupación.

En la figura 2 se muestran los incrementos relativos de peso larvario entre pesadas sucesivas a lo largo de toda la experiencia. Observemos en la figura 2 (A) la pauta seguida por el blanco (el testigo tiene un comportamiento similar). Conforme va progresando la experiencia se van produciendo ganancias graduales y uniformes de peso, llegándose a una estabilización del incremento, e incluso a un ligero descenso al final del ensayo, coincidiendo con la pupación. La fracción con poca actividad (extracto de frutos a 1000 ppm), tiene un comportamiento que no difiere significativamente del comentado. Al principio los incrementos son menores, pero al ir progresando la experiencia las dos formas de la curva se igualan. Si ahora observamos uno de los tratamientos de actividad antialimentaria moderada, por

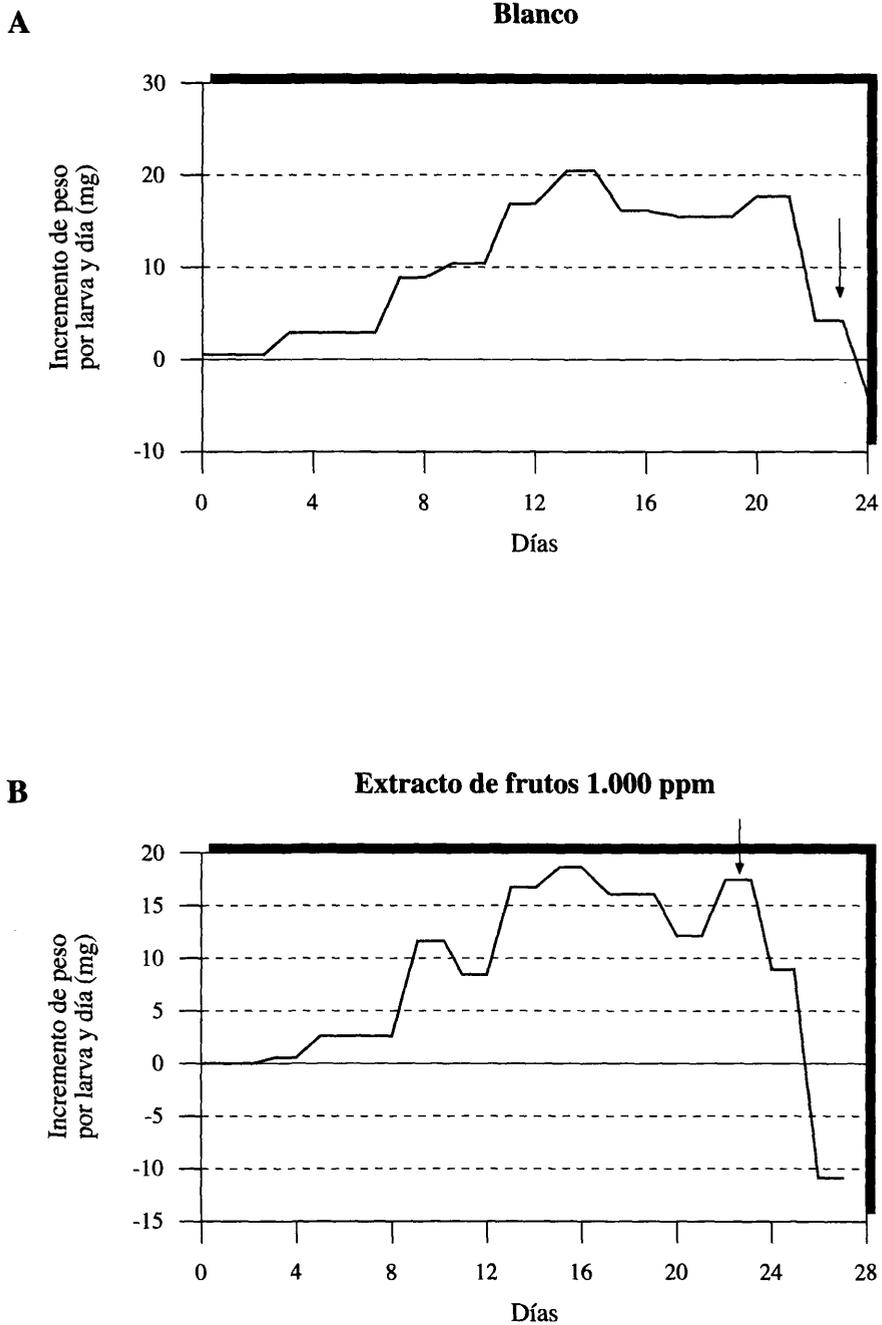


Fig. 2.—Evolución del peso medio por larva y día de larvas alimentadas con: (A) dieta no tratada, (B) dieta tratada con extracto de frutos a 1000 ppm, (C) dieta tratada con extracto de semillas a 2000 ppm, y (D) dieta tratada con «Mubel» a 75 ppm.. La flecha indica el final del tratamiento y el inicio de la alimentación con dieta artificial no tratada.

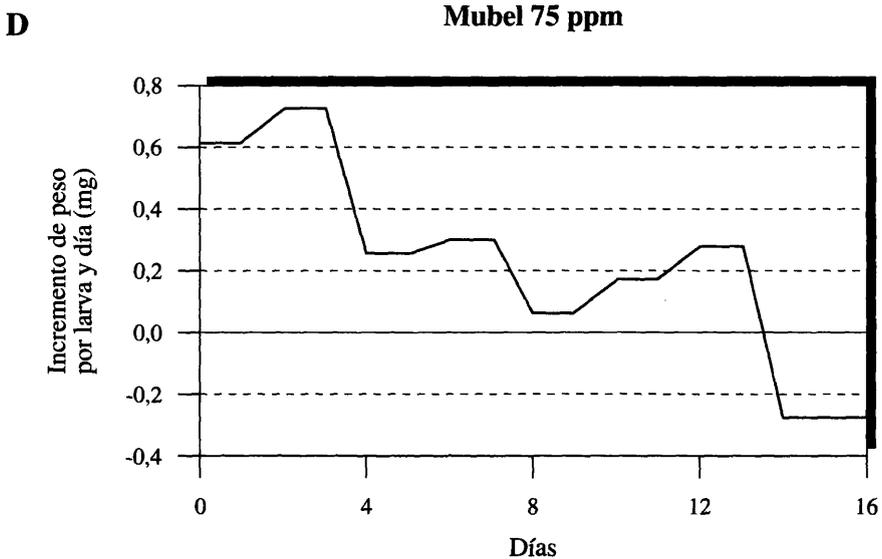
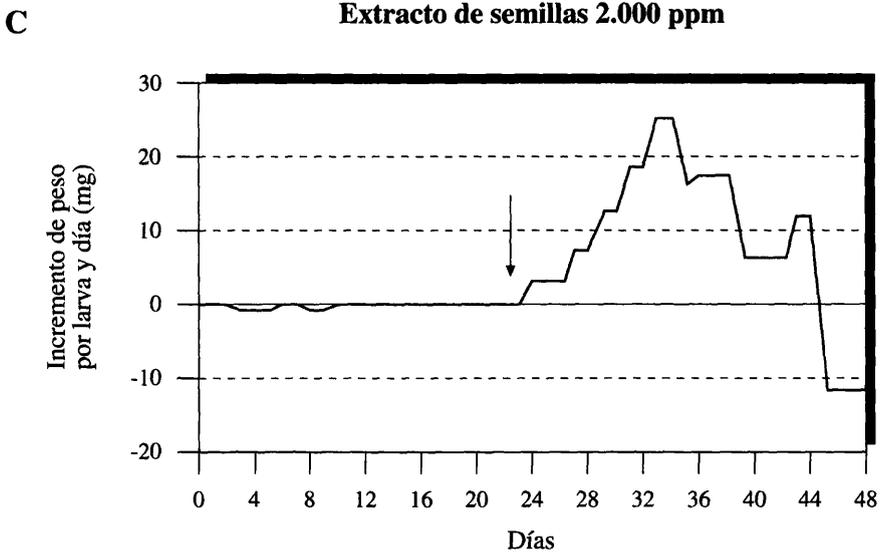


Fig. 2 (Continuación).—Evolución del peso medio por larva y día de larvas alimentadas con: (A) dieta no tratada, (B) dieta tratada con extracto de frutos a 1000 ppm, (C) dieta tratada con extracto de semillas a 2000 ppm, y (D) dieta tratada con «Mubel» a 75 ppm.. La flecha indica el final del tratamiento y el inicio de la alimentación con dieta artificial no tratada.

ejemplo la fracción de extracto de semillas a dosis 2000 ppm, vemos que mientras dura el tratamiento los incrementos son mínimos o nulos y la pendiente de la curva sólo aumenta al cesar el mismo, pudiéndose entonces producir la recuperación de las larvas llegando a pesos de muda similares. Finalmente para la fracción más activa, el «Mubel» a dosis de 75 ppm, los incrementos son mínimos e incluso a veces aparecen valores negativos, perdiendo las larvas peso entre dos pesadas sucesivas. Los efectos de fagodepresión eran pues en este caso notorios, la larva dejaba de comer y producía muy pocos excrementos. Estos valores negativos en ganancias de peso están documentadas en la literatura para otros lepidópteros (ARNASON y otros, 1985), y pueden interpretarse por el considerable consumo energético de la larva debido a la producción de biomasa para su desintoxicación.

Evolución de la dieta ingerida

En el cuadro 2 se muestran los valores de ingestión acumulada al final de tratamiento

(23 días). Dichos valores corresponden a gramos de dieta fresca, habiéndose restado las pérdidas de agua sufridas por los trozos de dieta. La evolución de la ingestión acumulada de la dieta tratada y no tratada por larvas de *S. nonagrioides* en el mismo periodo se muestra en la gráfica de la figura 1 (B). Todos los productos ensayados excepto el extracto de frutos a 1000 ppm han mostrado al final del tratamiento diferencias significativas respecto a los controles. A los tratamientos con azadiractina, «Mubel» y extracto de semillas aplicados a dosis más altas corresponden medias de ingestión inferiores, aunque tras el tratamiento estadístico las diferencias observadas no fueron significativas.

Evolución de los excrementos producidos

En el cuadro 3 se muestran los valores de excrementos acumulados por las larvas al final del tratamiento, a su vez, la evolución de este parámetro con el tiempo se muestra en la gráfica de la figura 1 (C). Al final del tratamiento todas las fracciones probadas,

Cuadro 2.-Ingestión acumulada de dieta fresca de las larvas de *S. nonagrioides* durante los 23 días del bioensayo. ET, error típico; (n), número de medidas contabilizadas en el análisis. Para cada ensayo, las medias seguidas con la misma letra no son significativamente diferentes (Prueba LSD, $p < 0,05$)

Tratamiento	ppm	Ingestión acumulada de dieta fresca (IADF) (g)		
		Media \pm ET (n)		
		5 días	15 días	Final tratamiento
Blanco	-	0,073 \pm 0,015 abc (15)	1,249 \pm 0,086 d (15)	3,160 \pm 0,151 e (15)
Testigo	-	0,062 \pm 0,012 abc (14)	1,284 \pm 0,118 d (14)	2,873 \pm 0,200 e (14)
Azadiractina	0,25	0,078 \pm 0,015 abc (15)	0,443 \pm 0,067 b (15)	1,018 \pm 0,130 abcd (15)
	1,50	0,069 \pm 0,014 abc (14)	0,302 \pm 0,071 ab (13)	0,740 \pm 0,164 abc (12)
Mubel	12,50	0,068 \pm 0,009 abc (15)	0,391 \pm 0,040 b (14)	0,943 \pm 0,097 abc (14)
	75	0,083 \pm 0,018 abc (13)	0,155 \pm 0,011 ab (4)	0,278 \pm 0,031 a (2)
Extracto de semillas	1.000	0,059 \pm 0,012 abc (15)	0,357 \pm 0,045 b (15)	0,882 \pm 0,123 abc (15)
	2.000	0,022 \pm 0,014 ab (15)	0,148 \pm 0,040 a (13)	0,308 \pm 0,079 ab (12)
Extracto de frutos	1.000	0,033 \pm 0,010 abc (15)	0,931 \pm 0,135 c (11)	3,116 \pm 0,262 e (11)
	2.000	0,035 \pm 0,042 abc (14)	0,273 \pm 0,034 ab (13)	1,403 \pm 0,115 d (13)

Cuadro 3.—Evolución de los excrementos acumulados producidos por larvas de *S. nonagrioides* durante el bioensayo. ET, error típico; (n), número de medidas contabilizadas en el análisis. Para cada ensayo, las medias seguidas con la misma letra no son significativamente diferentes (Prueba LSD, $p < 0,05$)

Tratamiento	ppm	Excrementos acumulados (mg)		
		Media \pm ET (n)		
		5 días	15 días	Final tratamiento
Blanco	–	22 \pm 4 de (15)	859 \pm 87 de (15)	2.503 \pm 156 d (15)
Testigo	–	24 \pm 4 e (14)	940 \pm 98 e (14)	2.448 \pm 174 d (14)
Azadiractina	0,25	19 \pm 3 cde (15)	219 \pm 43 abc (15)	682 \pm 102 b (15)
	1,50	14 \pm 2 bc (14)	144 \pm 42 abc (13)	479 \pm 132 ab (12)
Mubel	12,50	12 \pm 3 bc (15)	192 \pm 27 abc (14)	602 \pm 78 b (14)
	75	10 \pm 2 ab (13)	70 \pm 25 abc (4)	169 \pm 11 ab (2)
Extracto de semillas	1.000	12 \pm 2 bc (15)	167 \pm 26 abc (15)	555 \pm 100 b (15)
	2.000	2 \pm 1 a (15)	40 \pm 10 ab (13)	141 \pm 37 a (12)
Extracto de frutos	1.000	16 \pm 2 bcd (15)	713 \pm 102 d (11)	2.656 \pm 220 d (11)
	2.000	2 \pm 1 a (14)	199 \pm 25 abc (13)	1.178 \pm 109 c (13)

exceptuando la del extracto de frutos a dosis baja, presentaron unas medias inferiores a los controles. En este caso sí llegamos a encontrar diferencias significativas entre tratamientos en función de la dosis aplicada, resultando que las dosis altas de «Mubel», del extracto de semillas y de la azadiractina fueron los tratamientos más activos.

Si se comparan las figuras 1 A, B y C se puede observar la amplia correlación que existe entre los tres índices durante todo el periodo de tratamiento. Lo que pone en evidencia el carácter básicamente antinutritivo de las fracciones probadas. Dicho efecto es el más notorio y más evidenciado en trabajos de aplicación de los distintos extractos vegetales de neem en dieta de insectos (SCHMUTTERER, 1990).

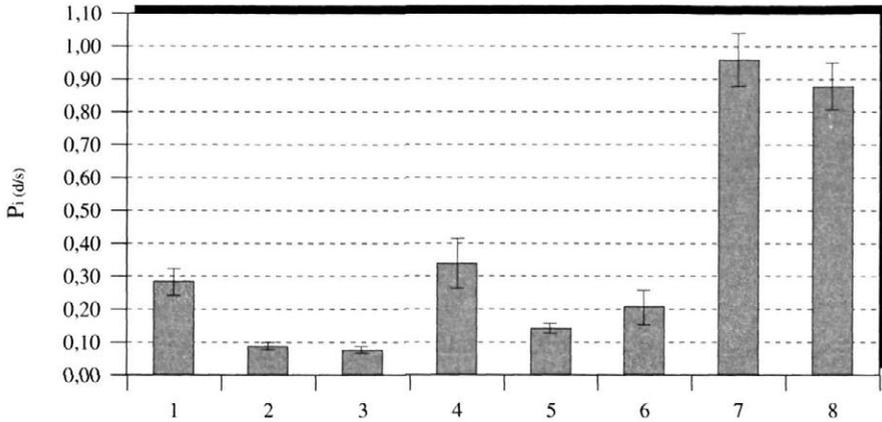
Índice de fagodepresión

A las mismas conclusiones llegamos si estudiamos el parámetro índice de fagodepresión/fagoestimulación. Tal como se ha definido el índice de fagodepresión debe adquirir valores superiores a la unidad para un fa-

goestimulante y menores a 1 para un fago-repelente. Del diagrama de la figura 3 observamos los valores más bajos de este índice para las fracciones más bioactivas, del orden de 0,1-0,2 para la azadiractina, «Mubel» y extracto de semillas y del orden de 0,3-0,4 para las restantes fracciones con actividad antialimentaria menor. La evidencia de la poca actividad global del extracto de frutos a dosis baja se constata nuevamente por el valor de este índice cercano a 1.

Duración del desarrollo

Los datos reflejados en el cuadro 4 sobre la duración del desarrollo de la larva desde el inicio de la experiencia hasta pupación, ahondan en lo comentado hasta el momento, frente a medias de duración de 26-28 días obtenidas por los controles, resultan valores de 53-54 días para las fracciones más activas y valores intermedios para tratamientos de actividad moderada, valores entre 39-40 días. En todos los casos, exceptuando el extracto de frutos a dosis 1000 ppm, existen diferencias significativas con los controles.



- 1.- Extracto de semilla 1.000 ppm 2.- Azadiractina 0,25 ppm 3.- Mubel 12,5 ppm
 4.- Azadiractina 1,5 ppm 5.- Mubel 75 ppm 6.- Extracto de semillas 2.000 ppm
 7.- Extracto de frutos 1.000 ppm 8.- Extracto de frutos 2.000 ppm

Fig. 3.-Índice de fagodepresión/estimulación (P_{i(d/s)}) para los diferentes tratamientos realizados sobre larvas de *S. nonagrioides* en el bioensayo.

Cuadro 4.-Duración media del periodo larvario desde el 2º estadio hasta pupación para larvas de *S. nonagrioides* en el bioensayo. ET, error típico; (n), número de medidas contabilizadas en el análisis. Para cada ensayo, las medias seguidas con la misma letra no son significativamente diferentes (Prueba LSD, p < 0,05)

Producto	Concentración	Duración del desarrollo (días) Media ± ET (n)
Blanco	-	28,9 ± 1,3 b (15)
Testigo	-	26,7 ± 0,6 a (13)
Azadiractina	0,25 ppm	40 ± 1,2 c (15)
	1,50 ppm	53,8 ± 2,9 d (12)
Mubel	12,50 ppm	38,5 ± 0,9 c (13)
	75 ppm	-
Extracto de semillas	1.000 ppm	39,7 ± 0,8 c (15)
	2.000 ppm	52,7 ± 1,1 d (12)
Extracto de frutos	1.000 ppm	31,5 ± 0,8 b (11)
	2.000 ppm	42,4 ± 1,8 c (12)

Mortalidad acumulada

Los datos de mortalidad acumulada se deducen del cuadro 1. De su observación se

deduce que a las dosis empleadas, sólo en el caso del «Mubel» a dosis de 75 ppm se da un 100% de mortalidad; esta mortalidad se va produciendo periódica y progresivamente

a lo largo de todo el experimento. Las restantes fracciones proporcionan mortalidad baja (15-20%), mortalidad que sobreviene mayoritariamente en los primeros días de la experiencia y de forma brusca.

Las causas de mortalidad de las larvas en algunos casos se debían a la imposibilidad de mudar, observaciones a la lupa binocular revelaban la imposibilidad de desprendimiento del exubio, y también en ocasiones se observaba que las larvas morían de inanición, con muy poco peso y al poco tiempo de adquirir coloraciones negruzcas.

El orden Lepidoptera es el grupo más sensible a los efectos reguladores del crecimiento de los extractos de Meliaceae. Estudios detallados de los efectos de la aplicación de azadiractina sobre el sistema hormonal, muestran una respuesta dosis-dependiente, que puede producir una reducción en la tasa de desarrollo post-embionario, alteraciones de la metamorfosis, aparición de estadios supernumerarios, imposibilidad de realizar ninguna muda, e incluso la muerte (KUBO y KLOCKE, 1982).

Cantidad de tratamiento químico ingerido

En el cuadro 5 se muestran los valores del índice I_q para los diferentes tratamientos

considerados. De la observación de los datos de la tabla se ve que no hay diferencias significativas entre dosis para los tratamientos con extractos de la planta (de frutos o de semillas). Para la Azadiractina estas diferencias aparecen claras, ingiriéndose más producto a la dosis más alta de tratamiento. En el caso del «Mubel» sería un caso intermedio donde se observa una tendencia similar aunque sin llegar a darse diferencias significativas.

Los extractos de frutos permiten la ingestión de mayor cantidad de tratamiento químico, diferencia que podría explicarse por la diferente composición química y nutricional del substrato para la larva.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en esta experiencia se puede concluir que:

– Los extractos metanólicos de frutos (2000 ppm) y semillas (1000 y 2000 ppm) han mostrado una fuerte actividad antialimentaria frente a larvas de *S. nonagrioides*.

– Larvas tratadas con extracto de frutos a 2000 ppm, y extracto de semillas a 1000 ppm manifiestan un comportamiento muy similar a las tratadas con azadiractina a dosis 0,25 ppm y «Mubel» a 12,5 ppm. Este

Cuadro 5.—Cantidad de producto químico (I_q) ingerido por larvas de *S. nonagrioides* en los distintos tratamientos del bioensayo. ET, error típico; (n), número de medidas contabilizadas en el análisis.

Para cada ensayo, las medias seguidas con la misma letra no son significativamente diferentes (Prueba LSD, $p < 0,05$)

Producto	Concentración	Cantidad de producto químico ingerido en μg (I_q) Media \pm ET (n)
Azadiractina	0,25 ppm	0,09 \pm 0,01 a (15)
	1,50 ppm	0,34 \pm 0,07 b (12)
Mubel	12,50 ppm	0,07 \pm 0,01 a (14)
	75 ppm	0,14 \pm 0,01 ab (2)
Extracto de semillas	1.000 ppm	0,28 \pm 0,04 ab (15)
	2.000 ppm	0,20 \pm 0,05 ab (12)
Extracto de frutos	1.000 ppm	0,96 \pm 0,08 c (11)
	2.000 ppm	0,88 \pm 0,07 c (13)

comportamiento análogo también se da entre tratamientos con extractos de semillas a 2000 ppm, azadiractina a 1,5 ppm y «Mubel» a 75 ppm. El extracto de frutos a 1000 ppm apenas muestra bioactividad.

– Existe una buena correlación entre todos los índices utilizados para evaluar la bioactividad de estos extractos, pudiéndose utilizar

para su evaluación. Las evoluciones de los índices de ganancia de peso de las larvas, de la ingestión acumulada de dieta fresca, y de la producción acumulada de excrementos de las larvas, nos confirman que la actividad mostrada por los diferentes componentes activos utilizados es, esencialmente, antialimentaria.

ABSTRACT

JUAN SERRA, A.; SANS BADIA, A. y RIBA VILADOT, M., 1998: Caracterization of the antifeedant activity of fruit and seed extracts of *Melia azedarach* L. and *Azadirachta indica* A. on larvae of the lepidoptera *Sesamia nonagrioides* Lef. *Bol. San. Veg. Plagas*, 24(Adenda al n.º 4): 1019-1032.

Fruit and seed methanolic extracts obtained from the ornamental tree *Melia azedarach* have showed a good antifeedant activity on 2^o instar larvae *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae), an important pest of maize. Larvae were fed with artificial diet, at which we had introduced the corresponding tested products at 1000 and 2000 ppm doses. The evolution of larva mean weight, the increases of this index between two consecutive weightings, the amount of ingested diet, the amount of produced frass, the phagodepression - phagostimulation index, the amount of ingested chemical, the larval period length, the accumulated mortality, and the abnormality of the moulting were evaluate to follow the experience. Seed methanolic extracts showed a great bioactivity at the two doses used. At a dose of 2000 ppm its activity was similar to those exhibited by azadirachtin (used at 1,25 ppm), and by a commercial neem extract (used at 75 ppm). Fruit extracts were less active, and only at the highest dose used displayed a slight antifeedant activity.

Key words: *Melia azedarach*, *Azadirachta indica*, Meliaceae, *Sesamia nonagrioides*, Lepidoptera, Noctuidae, antifeedant activity, phagodepression index, azadirachtin, commercial extract of Meliaceae.

REFERENCIAS

- ARNASON, J. T.; PHILIGENE, B. J. R. y MORAND, P. (Eds.), 1989: Insecticides of plant origin. American Chemical Society (ACS Symp. Ser. 387).
- ARNASON, J. T.; PHILIGENE, B. J. R.; DONSKOV, N.; HUDON, M.; McDUGALL, C.; FORTIER, G.; MORAND, P.; GARDNER, D.; LAMBERT, J.; MORRIS, C. y NOZZOLILLO, C., 1985: Antifeedant and insecticidal properties of azadirachtin to the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *Entomol. Exp. Appl.* 38: 29-34.
- BROUGHTON, H. B.; JONES, P. S.; LEY, S. V.; MORGAN, A.; SLAWIN, M. Z. y WILLIAMS, D. J., 1987: The chemical structure of azadirachtin. pp 103-110. En: *Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants*. Proc. 2nd Int. Neem Conf. Nairobi. Schmutterer H and Ascher K.R.S. (Eds.). Eschborn, Germany. (1987).
- EHRlich, P. R. y RAVEN, A. H., 1964: Evolution of butterflies and plants: A study in coevolution. *Evolution* 18: 586-608.
- KOUL, O., 1982: Insect feeding deterrents in plants. *Ind. Rev. Life Sci.* 2: 97-125.
- KUBO, I. y KLOCKE, J. A., 1982: Azadirachtin, insect ecdysis inhibitor. *Agric. Biol. Chem.* 181-189.
- POLUNIN, E., 1989: *Árboles y arbustos de Europa*. pp. 227. Omega.
- REESE, J. C. y HOLYOKE, C. W., 1987: Allelochemicals SCHMUTTERER, H.; ASCHER, K. R. S. y REMBOLD, H. (Eds.), 1981: Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss). Proc. 1st Int. neem Conf. Rottach-Egern, 1990. Eschborn, Germany. affecting insect growth and development. En *Handbook of Natural Pesticides: Insect Growth Regulators*, Vol. III, pp. 21-26, N. D. Mandava (Ed.), C.R.C. Press Inc., Boca Raton, Florida.
- SCHMUTTERER, H., 1990: Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu. Rev. Entomol.* 35: 271-97.

SCHMUTTERER, H.; ASCHER, K. R. S. y REMBOLD, H. (Eds.), 1981: Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss). Proc. 1st Int. neem Conf. Rottach-Egern, 1990. Eschborn. Germany.

SCHMUTTERER, H. y ASCHER, K. R. S. (Eds.), 1984 y 1987: Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants. Proc. 2on and 3rd Int. neem Confs. German Agency for Technical Cooperation. Eschborn. Germany.

WHARTHEN, J. D.; STOKES, J. B.; JACOBSON, M. y KOZEMPEL, M. P., 1984: Estimation of azadirachtin con-

tent in neem extracts and formulations. *J. Liquid Chrom.* 7: 591-598.

WHITTAKER, R. H., 1970: *Chemical Ecology*. Sondheimer E. and Simeone J.B. (Eds.) Academic Press, New York, pp. 43.

(Recepción: 9 enero 1998)

(Aceptación: 11 mayo 1998)