

---

## Actividad biológica de extractos de *Melia azedarach* sobre larvas de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae)

---

ROSSETTI, María R.\*, María T. DEFAGÓ\*, María C. CARPINELLA\*\*, Sara M. PALACIOS\*\* y Graciela VALLADARES\*

\*Centro de Investigaciones Entomológicas de Córdoba. IMBIV. Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba. Av. Velez Sársfield 1611, (X5016GCA) Córdoba, Argentina; e-mail: mrossetti@hotmail.com

\*\*Laboratorio de Química fina y productos naturales. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Católica de Córdoba. Camino a Alta Gracia km 10, (5000) Córdoba, Argentina

### Biological activity of extracts of *Melia azedarach* on larvae of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae)

■ **ABSTRACT.** In the course of searching for plant chemicals with potential insecticide properties, the activity of *Melia azedarach* L. senescent leaf and ripe fruit extracts (2, 5 and 10%) was evaluated on larvae of *Spodoptera eridania* Cramer (Lepidoptera: Noctuidae). This polyphagous species is considered a sporadic pest on many important crops. Food consumption was assessed and an antifeedant index was calculated through choice tests. Also, food consumption, larval mortality, weight and depositions were recorded and nutritional indices were calculated in no-choice tests. Results from choice tests showed a strong antifeedant effect of both extracts. In no-choice tests, the leaf and fruit extracts strongly reduced food consumption and larval weight, except with fruit extract at the lowest concentration. Larvae did not reach the pupal stage when high concentrations of leaf or fruit extract were used. Antifeedant activity was corroborated by nutritional indices, which also revealed negative effects of extracts on relative consumption, growth rates and efficiency in utilization of ingested and digested food, although digestibility was not affected. Our results suggest that *M. azedarach* extracts could be incorporated in management programs for this insect pest.

**KEY WORDS.** Botanical insecticide. *Melia azedarach*. *Spodoptera eridania*. Antifeedant activity. Nutritional index.

■ **RESUMEN.** En la búsqueda de compuestos botánicos con potencial uso insecticida, se evaluó la actividad de extractos de fruto maduro y hojas senescentes de *Melia azedarach* L. (2, 5 y 10%), sobre larvas de *Spodoptera eridania* Cramer (Lepidoptera: Noctuidae) especie polífaga considerada plaga esporádica de importantes cultivos. Mediante pruebas de elección, se registró el consumo y se calculó un índice de inhibición alimentaria. En pruebas sin posibilidad de elección se estimó el consumo, la mortalidad, el peso de larvas y excretas, y se calcularon índices nutricionales. Cuando las larvas pudieron optar, se observó un fuerte efecto antialimentario de los extractos. En los ensayos de alimentación obligada, los extractos de fruto y hoja redujeron fuertemente el consumo y peso larval respecto al control, excepto la menor dosis de fruto. Ninguna oruga llegó a pupar al entregarle alimento rociado con extracto de hoja o con extracto de fruto en las

dosis más altas. Los índices nutricionales corroboraron la actividad antialimentaria, revelando efectos negativos de los extractos sobre las tasas relativas de consumo y crecimiento, y sobre la eficiencia de utilización del alimento ingerido y digerido, aunque la digestibilidad no fue afectada. Los resultados sugieren que los extractos de *M. azedarach* podrían ser incorporados en programas de manejo de este insecto plaga.

**PALABRAS CLAVE.** Insecticidas botánicos. *Melia azedarach*. *Spodoptera eridania*. Actividad antialimentaria. Índices nutricionales.

## INTRODUCCIÓN

Durante las últimas cinco décadas, los insecticidas sintéticos han sido los elementos más utilizados para el control de organismos perjudiciales (Novo *et al.*, 2001). El uso extensivo e indiscriminado de estos compuestos ha ocasionado contaminación del suelo y agua, ha causado efectos tóxicos sobre organismos benéficos, personas y otros vertebrados, y ha generado el desarrollo de resistencia en los insectos que se pretendía controlar (Saxena, 1989; Ascher, 1993; Brunheroto & Vendramim, 2001; Mareggiani, 2001). Debido a esto, se ha iniciado la búsqueda de nuevos insecticidas que sean compatibles con el ambiente (Chiu, 1989) y además económicos (Hernández & Vendramim, 1998).

Los compuestos botánicos constituyen una antigua alternativa para el control de insectos plaga (Champagne *et al.*, 1989; Silva *et al.*, 2002), ya que cuentan con la ventaja de degradarse rápidamente en el ambiente y de ser más específicos que los insecticidas sintéticos (Schmidt *et al.*, 1997; Breuer & De Loof, 1998); además disminuyen la probabilidad de generar especies resistentes (Valladares *et al.*, 2003; Brito *et al.*, 2004).

En la actualidad, se conoce que un gran número de especies vegetales pueden suministrar sustancias para la producción de insecticidas (Huang *et al.*, 1999; Pungitore *et al.*, 2005). Dos especies de la familia Meliaceae, ampliamente investigadas, son *Azadirachta indica* A. Juss («neem») y *Melia azedarach* L. («paraíso»), de las cuales se han aislado metabolitos secundarios del tipo limonoide con efectos negativos sobre insectos y otros artrópodos (Schmutterer,

1990; Kraus *et al.*, 1987; Carpinella *et al.*, 2003; Defagó *et al.*, en prensa).

Especies de los órdenes Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, Isoptera, Phthiraptera y Hemiptera han sido estudiadas para evaluar la actividad de extractos crudos e ingrediente activo de *M. azedarach* (Dilawari *et al.*, 1994; Schmutterer, 1995; Valladares *et al.*, 1997; 1999; Serra *et al.*, 1998; Brunherotto & Vendramim, 2001; Carpinella *et al.*, 2003; 2007; Defagó *et al.*, en prensa; Coria *et al.*, en prensa). La principal propiedad atribuida a estos compuestos es la actividad antialimentaria (Hernández & Vendramim, 1998; Breuer & De Loof, 2000; Valladares *et al.*, 2003), aunque también se han mencionado efectos sobre la duración de los estadios larvales (Riba *et al.*, 1996; Brunheroto & Vendramim, 2001), el crecimiento, el comportamiento larval (Breuer & De Loof, 1998) y los parámetros reproductivos (Dilawari *et al.*, 1994; Schmidt *et al.*, 1997).

Dentro del orden Lepidoptera, el género *Spodoptera* Guenée agrupa especies que causan daños a una gran variedad de cultivos de importancia económica (Del Tío *et al.*, 1996; Rodríguez *et al.*, 2002). Entre las diferentes alternativas propuestas para su control, los extractos obtenidos a partir de distintas estructuras del «paraíso» mostraron acción antialimentaria sobre larvas de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Del Tío *et al.*, 1996), *S. frugiperda* (J. E. Smith) (Carpinella *et al.*, 2003), *S. eridania* (Cramer) (Gomero & Hoss, 1994) y *S. littoralis* (Boisd.) (Del Tío *et al.*, 1996); además de una reducción en la utilización del alimento en larvas de la última especie (Schmidt *et al.*, 1997). Ingredientes activos aislados de *M. azedarach* también

produjeron efectos disuasivos de la alimentación en *S. litura* (Fabricius) (Macleod *et al.*, 1990).

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de extractos crudos de *M. azedarach* sobre el consumo y posterior utilización del alimento en larvas de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae). Esta es una especie polífaga cuyas larvas defoliadoras son consideradas plagas ocasionales en varios países de América Latina, en cultivos de batata (Rodríguez *et al.*, 2002), tomate (Miranda *et al.*, 2005) y algodón (Dos Santos *et al.*, 2005).

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Cría de *Spodoptera eridania*:** Se recolectaron oviposturas de *S. eridania* en distintos cultivos de la ciudad de Córdoba y se estableció un criadero en laboratorio. Las larvas emergidas fueron ubicadas en recipientes plásticos y alimentadas con hojas de lechuga (*Lactuca sativa* var. *longifolia* o var. *crispa*). Al completar el desarrollo larval fueron colocadas en cajas con turba para pupar; los adultos emergidos fueron trasladados a recipientes plásticos y alimentados con una solución de glucosa al 5%. Las oviposturas, recolectadas de las paredes de estos recipientes, se ubicaron en cápsulas de Petri hasta el momento de emerger las orugas (adaptado de Schmidt *et al.*, 1997). Para los ensayos, se emplearon larvas de tercer estadio con un peso que osciló entre 0,08-0,16 mg, se trabajó bajo condiciones controladas de humedad relativa (65% ± 5), temperatura (28° C ± 2) y fotoperíodo (12:12 horas).

**Extractos:** fueron provistos por el Centro de Productos y Procesos de Córdoba (CEPROCOR), se obtuvieron a partir de frutos maduros y hojas senescentes de árboles de *M. azedarach* ubicados en la ciudad de Córdoba. Se procesaron en un Soxhlet con etanol, el residuo obtenido se diluyó posteriormente con agua (para los frutos) o etanol (hojas) hasta alcanzar concentraciones de 2, 5 y 10% para ambos extractos (Valladares *et al.*, 1997; 2003).

## Bioensayos:

1-Pruebas de elección: Para medir el efecto antialimentario, se colocó una larva por cápsula de Petri con dos semicírculos de lechuga (2,5 cm de radio), uno rociado (ambas caras) con 0,25 ml de extracto (2, 5 o 10%) y otro con igual cantidad de solvente (agua o etanol) (Valladares *et al.*, 1997). Debajo de la lechuga se ubicó un disco de algodón humedecido con agua destilada para reducir la deshidratación del material vegetal. Se realizaron 10 repeticiones por concentración para ambos tipos de extracto. Luego de 24 horas, se estableció el porcentaje de área consumida (estimado visualmente mediante el uso de una cuadrícula) y se calculó un índice de inhibición alimentaria (IIA %) =  $[(1-T / C) \times 100]$ , siendo T el consumo promedio de alimento tratado con extracto y C el equivalente en los controles (Hassanali & Bentley, 1987). Se realizaron comparaciones mediante prueba «t» para datos apareados o su equivalente no paramétrico (Wilcoxon).

2-Pruebas sin posibilidad de elección: Para estudiar los efectos antialimentarios y tóxicos de los extractos, se alimentaron las larvas con círculos de lechuga (5 cm diámetro) rociados con 0,6 ml de extracto o con agua o etanol como control. Los discos de lechuga fueron renovados cada 48 horas, se registró la mortalidad larval, el porcentaje de alimento consumido (estimación visual) y también el peso de las larvas, del alimento entregado y de las excretas. Se colocó 1 larva por cápsula de Petri y se realizaron 8 repeticiones para cada concentración y tipo de extracto. Además, 8 orugas fueron totalmente privadas de alimento para establecer la mortalidad por ayuno.

Con los datos obtenidos se calcularon los siguientes índices nutricionales (Fagoonee, 1984):

- Tasa relativa de crecimiento (TRCr) =  $(P_F - P_I) / (P_G \times T)$ , donde  $P_F$  es el peso final de las larvas (mg),  $P_I$  el peso de las larvas al inicio del experimento,  $P_G$  la media geométrica del peso larval calculada como:  $(P_I \times P_F)^{1/2}$  y T el período de tiempo (10 días).

- Tasa relativa de consumo (TRCo) =  $I /$

**Tabla I.** Resultados obtenidos en pruebas de elección alimentaria empleando diferentes dosis de extracto de fruto maduro (FM) y hojas senescentes (HS) de *Melia azedarach* sobre larvas de *Spodoptera eridania*. Promedios ( $\pm$  error estándar) de diez réplicas.

Dosis (%)	Tratamiento	Control	$p^b$	IIA (%) <sup>a</sup>	
FM	2	0,0 (0,00)	29,1 (0,03)	<0,0001	100
	5	0,8 (0,01)	35,4 (0,06)	0,0001	97,7
	10	0,8 (0,01)	24,5 (0,04)	<0,0001	96,7
HS	2	3,5 (0,03)	20,7 (0,03)	0,0027	83,1
	5	7,5 (0,04)	16,3 (0,04)	0,2518	53,9
	10	2,8 (0,01)	13,9 (0,03)	0,0603	79,8

<sup>a</sup> IIA(%): Índice de inhibición alimentaria =  $[(1-T/C) \times 100]$  siendo «T» el consumo promedio de alimento tratado con extracto y «C» el equivalente en los controles.

<sup>b</sup> Consumo significativamente menor en sustrato tratado con extracto ( $p < 0.05$ ), Wilcoxon de comparación por pares.

$(P_G \times T)$ , donde I es el alimento ingerido (mg) calculado como: [peso inicial de la hoja (mg)  $\times$  porcentaje ingerido (estimado visualmente)] / 100.

- Eficiencia de conversión del alimento ingerido (ECI) =  $(P_F - P_I) / I \times 100$ .

- Eficiencia de conversión del alimento digerido (ECD) =  $(P_F - P_I) / (I - H) \times 100$ , donde H es el peso de las heces (mg).

- Digestibilidad aproximada (DA) =  $(I - H) / I \times 100$ .

Los Índices se calcularon con los valores obtenidos durante los primeros 10 días de experimentación, período de tiempo en que todos los tratamientos conservaban un número de individuos adecuado para establecer comparaciones.

Los datos se analizaron mediante Tablas de contingencia, Análisis de Varianza (ANOVA) y Prueba de Tukey o el correspondiente no paramétrico. Se realizaron regresiones para estudiar la relación de la concentración de extracto con el alimento consumido y el peso larval.

## RESULTADOS

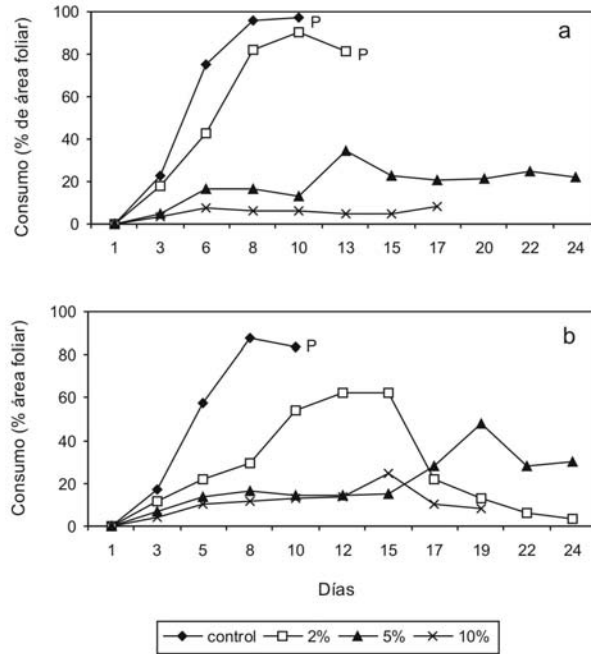
### Pruebas de elección

Los extractos de *M. azedarach* mostraron una elevada actividad disuasiva de la alimentación sobre larvas de *S. eridania* (Tabla I). El consumo de hojas tratadas con extracto de fruto fue significativamente menor respecto a los controles, registrándose

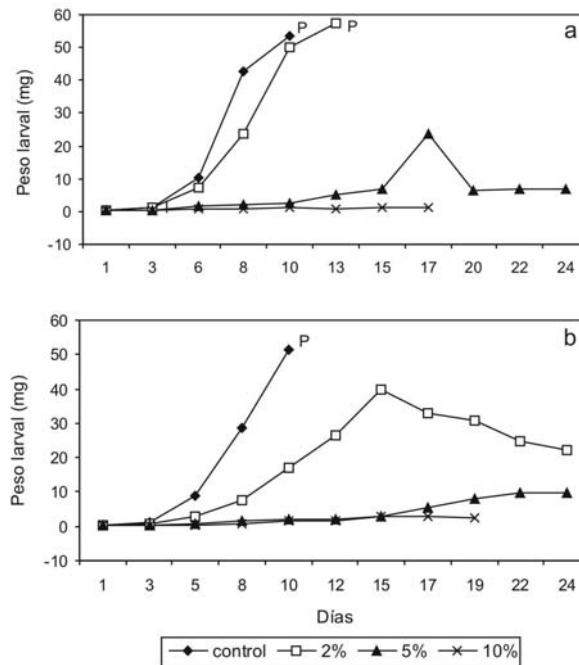
para todas las concentraciones valores de IIA superiores al 95%. En las pruebas en las que se utilizó extracto de hoja senescente sólo se observó una reducción significativa del consumo al emplear la menor concentración.

### Pruebas sin posibilidad de elección

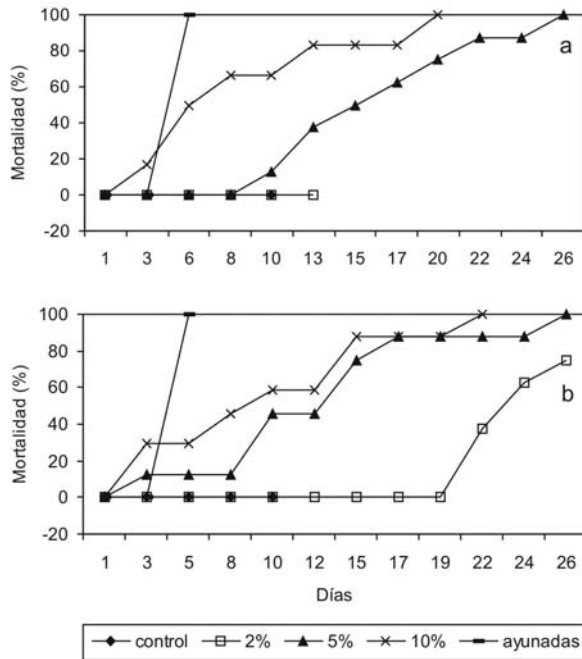
La cantidad de alimento ingerido por larvas de *S. eridania* difirió según la dosis empleada. Los extractos al 5 y 10% de fruto y hoja senescente redujeron significativamente la ingesta de las larvas, en relación a los controles a partir del tercer día de experimentación (fruto:  $F = 16,88$ ;  $gl = 3, 21$ ;  $p < 0,001$  y hoja:  $F = 12,41$ ;  $gl = 3, 21$ ;  $p < 0,001$ ) (Figs. 1a y b). Las larvas alimentadas con la menor dosis del extracto de fruto ingirieron cantidades de alimento similares a las larvas control (Fig. 1a). En cambio, cuando se empleó la misma dosis (2%) de extracto de hojas senescentes, la ingesta disminuyó respecto al control a partir del quinto día del ensayo ( $F = 11,97$ ;  $gl = 3,23$ ;  $p = 0,001$ ); sin embargo, fue significativamente superior respecto a las concentraciones más altas a partir del tercer y quinto día respectivamente (10%:  $F = 12,41$ ;  $gl = 3, 21$ ;  $p < 0,001$ ; 5%:  $F = 11,97$ ;  $gl = 3,23$ ;  $p = 0,001$ ) (Fig. 1b). El porcentaje de alimento consumido mostró una relación negativa con la concentración de extracto a lo largo del estudio, registrándose el día 8 los siguientes valores:  $R^2 = 0,73$  ( $p < 0,001$ ) para fruto y  $R^2 = 0,61$  ( $p < 0,001$ ) para hoja.



**Fig. 1.** Consumo diario promedio (como % de área foliar) por larvas de *Spodoptera eridania* alimentadas con diferentes dosis de extracto de fruto (a) y hojas senescentes (b) de *Melia azedarach*. P: Día en que las larvas se enterraron para pupar. Cada punto representa el promedio de ocho individuos al inicio del experimento.



**Fig. 2** Peso promedio (mg) de larvas de *Spodoptera eridania* alimentadas con diferentes dosis de extracto de fruto (a) y hojas senescentes (b) de *Melia azedarach* durante el transcurso del experimento. P: Día en que las larvas se enterraron para pupar. Cada punto representa el promedio de ocho individuos al inicio del experimento.



**Fig. 3.** Mortalidad acumulada (porcentaje) de larvas de *Spodotera eridania* alimentadas con diferentes dosis de extracto de fruto (a) y hojas senescentes (b) de *Melia azedarach* y privadas de alimento durante el transcurso del experimento. Cada punto representa el promedio de ocho individuos al inicio del experimento.

Los efectos de los extractos sobre el consumo de alimento se trasladaron al peso de las orugas de *S. eridania*. En los tratamientos con extracto de fruto, el peso larval fue negativamente afectado sólo por las dosis del 5% ( $F = 13,87$ ;  $gl = 3, 17$ ;  $p = 0,001$ ) y 10% ( $F = 5,15$ ;  $gl = 3, 21$ ;  $p = 0,008$ ) tras 6 y 3 días de tratamiento respectivamente (Fig. 2a). El extracto de hoja senescente (Fig. 2b) al 5 y 10% también ocasionó una sostenida disminución de peso larval, que alcanzó niveles significativos desde el tercer día ( $F = 7,37$ ;  $gl = 3, 23$ ;  $p < 0,002$ ) (Fig. 2b). El mismo extracto al 2% permitió un aumento considerable en el peso de las larvas, que alcanzaron, a partir del quinto día, valores intermedios entre los controles y las otras concentraciones de extracto ( $H = 18,76$ ;  $p < 0,001$ ). Se observó una relación negativa entre el peso larval y la concentración de extracto, tanto para fruto ( $R^2 = 0,64$ ;  $p < 0,001$ ) como para hoja ( $R^2 = 0,45$ ;  $p < 0,001$ ), valores correspondientes al octavo día de experimentación.

Las larvas control y las que se alimentaron con extracto de fruto al 2% puparon y emergieron el 100% de los adultos (Figs. 3a y b). Con la menor concentración de extracto de hojas senescentes (Fig. 3b), puparon el 12,5% de las larvas pero no se obtuvieron adultos. Las orugas privadas de alimento (Figs. 3a y b) alcanzaron el 100% de mortalidad al sexto día de comenzados los ensayos, superaron significativamente la mortalidad acumulada hasta ese momento para ambos tipos de extractos (fruto:  $\chi^2 = 30,71$ ;  $gl = 4$ ;  $p < 0,001$ ; y hoja:  $\chi^2 = 26,89$ ;  $gl = 4$ ;  $p < 0,001$ ) (Figs. 3a y b). Se registraron diferencias significativas entre la mortalidad producida por la dosis del 10% y el control, a partir del décimo día para fruto ( $\chi^2 = 28,19$ ;  $gl = 4$ ;  $p < 0,001$ ) y hoja ( $\chi^2 = 10,83$ ;  $gl = 3$ ;  $p = 0,012$ ) (Fig. 3a y b); esta concentración causó mortalidad total a los días 20 y 22 para los extractos de fruto y hoja respectivamente. Las dosis al 5% ocasionaron porcentajes de mortalidad que difirieron significativamente del control, a partir del día 17 para ambos

**Tabla II.** Efecto de diferentes concentraciones de extractos de fruto maduro (FM) y hojas senescentes (HS) de *Melia azedarach* sobre crecimiento, consumo y utilización del alimento de larvas de *Spodoptera eridania*. Cada valor corresponde al promedio de ocho réplicas ( $\pm$  error estándar).

Tratamiento	TRCo* (mg/mg/d)	TRCr* (mg/mg/d)	ECl* %	ECD* %	DA* %
FM control	16,81 (1,57) <sup>a **</sup>	2,67 (0,21) <sup>a</sup>	16,02 (0,62) <sup>a</sup>	17,77 (0,73) <sup>a</sup>	90,23 (0,49) <sup>ab</sup>
2%	12,68 (0,61) <sup>a</sup>	1,76 (0,22) <sup>b</sup>	14,28 (1,48) <sup>ab</sup>	16,39 (1,69) <sup>a</sup>	86,96 (1,45) <sup>a</sup>
5%	4,46 (0,34) <sup>b</sup>	0,39 (0,04) <sup>c</sup>	8,69 (0,77) <sup>bc</sup>	9,01 (0,74) <sup>b</sup>	96,13 (1,24) <sup>b</sup>
10%	2,80 (0,26) <sup>b</sup>	0,20 (0,03) <sup>c</sup>	7,26 (0,74) <sup>c</sup>	7,39 (0,65) <sup>b</sup>	98,12 (1,30) <sup>b</sup>
HS control	15,66 (0,81) <sup>a</sup>	2,04 (0,08) <sup>a</sup>	20,54 (1,49) <sup>a</sup>	22,60 (1,62) <sup>a</sup>	90,48 (0,79) <sup>ab</sup>
2%	8,44 (0,76) <sup>ab</sup>	1,14 (0,15) <sup>b</sup>	12,17 (1,34) <sup>b</sup>	14,93 (1,86) <sup>ab</sup>	83,48 (2,99) <sup>a</sup>
5%	9,43 (3,19) <sup>ab</sup>	0,38 (0,06) <sup>c</sup>	6,93 (0,03) <sup>b</sup>	8,25 (4,17) <sup>b</sup>	92,24 (6,25) <sup>ab</sup>
10%	6,56 (1,38) <sup>b</sup>	0,34 (0,02) <sup>c</sup>	5,96 (1,73) <sup>b</sup>	6,04 (1,79) <sup>b</sup>	99,10 (0,73) <sup>b</sup>

\* TRCo: Tasa relativa de consumo, TRCr: Tasa relativa de crecimiento, ECl: Eficiencia de conversión del alimento ingerido, ECD: Eficiencia de conversión del alimento digerido, DA: Digestibilidad aproximada.

\*\*Medias seguidas por la misma letra, dentro de cada columna, indican que no hay diferencia significativa ( $p < 0.05$ , Test de Tukey).

extractos (fruto:  $\chi^2 = 17,81$ ;  $gl = 3$ ;  $p < 0,001$ ; hoja:  $\chi^2 = 22,86$ ;  $gl = 4$ ;  $p < 0,001$ ); ninguna larva sobrevivió después del día 24 tanto para fruto como para hoja (Figs. 3a y b). Las larvas alimentadas con extracto de hoja al 2% alcanzaron el 100% de mortalidad el día 28 de iniciada la experiencia.

Los índices nutricionales corroboraron el efecto inhibitor de los extractos sobre la alimentación de las larvas de *S. eridania*, y mostraron también un efecto moderado sobre la utilización del alimento (Tabla II). Esto se vio reflejado en las tasas relativas de consumo (TRCo), que fueron significativamente inferiores en los tratamientos con extractos de fruto al 5 y 10% y hojas senescentes al 10% con respecto a las tasas registradas para los controles (fruto:  $F = 37,22$ ;  $gl = 3, 17$ ;  $p < 0,001$  y hoja:  $F = 3,74$ ;  $gl = 3, 19$ ;  $p < 0,02$ ) (Tabla II). Las tasas relativas de crecimiento fueron marcadamente superiores en los controles, respecto a las registradas para las dosis más altas de ambos extractos; las TRCr correspondientes a la concentración del 2% alcanzaron valores intermedios entre los controles y las dosis más altas (fruto:  $F =$

41,83;  $gl = 3, 17$ ;  $p < 0,001$ ; hoja:  $F = 42,14$ ;  $gl = 3, 19$ ;  $p < 0,001$ ) (Tabla II). Las eficiencias de conversión del alimento ingerido y digerido también se vieron afectadas cuando se utilizaron los dos tipos de extractos más concentrados (5 y 10%), con valores significativamente menores que los respectivos controles (fruto:  $F = 8,12$ ;  $gl = 3, 17$ ;  $p = 0,001$  y hoja:  $F = 9,83$ ;  $gl = 3, 19$ ;  $p < 0,001$ ) (Tabla II). La digestibilidad aproximada fue ligeramente superior en los tratamientos en que se emplearon dosis altas con respecto a los controles (Tabla II), aunque las diferencias no fueron significativas.

## DISCUSIÓN

Los extractos de fruto y hoja senescente de *M. azedarach* afectaron la alimentación de las larvas de *S. eridania*, pero los efectos fueron diferentes según la dosis utilizada y el ensayo efectuado, se corroboró la observación de Koul & Isman (1991), quienes afirmaron que la concentración de un extracto y la manera en que se administra, juegan un rol importante en la determinación del tipo de respuesta.

En las pruebas de elección (Tabla I), los

extractos al 2 y 10% de hoja y todas las dosis de fruto generaron un fuerte efecto disuasivo de la alimentación, registrándose índices de inhibición alimentaria altos [según Hassanali & Bentley (1987) que consideran IIA «altos» cuando los valores superan el 75% y «moderados» cuando se encuentran entre 50 y 75%]. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos para otras especies del mismo género tales como *S. littoralis*, *S. exigua* (Del Tío, *et al.*, 1996) y *S. frugiperda* (Carpinella *et al.*, 2003), que evitaron el alimento tratado con diferentes concentraciones de extracto de fruto de *M. azedarach*. En cambio, la dosis al 5% de extracto de hojas senescentes inhibió sólo moderadamente la alimentación de larvas de *S. eridania*, lo que coincide con experiencias previas que al utilizar igual tipo y concentración de extracto sobre larvas de *S. ornithogalli* (Guenée) obtuvieron un IIA del 40% (Valladares *et al.*, 2003).

El efecto antialimentario de los extractos de *M. azedarach* fue evidente por la marcada reducción de la ingesta observada cuando las larvas no tuvieron posibilidad de elegir (Figs. 1a y b). Las orugas tratadas con los extractos más concentrados de fruto y hojas senescentes redujeron el consumo en un 75% respecto a los controles. Una disminución de la ingesta en menor grado (52%) ha sido registrada para larvas de *S. frugiperda* frente a extractos de fruto al 5% (Hernández & Vendramim, 1998). Gomero & Hoss (1994) observaron que las larvas de *S. eridania* consumieron un 50% más cuando se empleó extracto de hojas de *M. azedarach* (5%), respecto al de semilla con la misma dosis. En cambio, nuestros resultados no mostraron diferencias en la cantidad de alimento ingerido al comparar extractos de fruto y hoja senescente a las dosis más altas (5 y 10%). Sin embargo, al utilizar la menor concentración se observaron diferencias entre los extractos: el de hojas senescentes redujo la ingesta en un 40% respecto al control, mientras que el extracto de fruto no afectó el consumo, contrastando con lo observado en las pruebas de elección. Resultados semejantes fueron presentados por Macleod *et al.* (1990), que utilizaron dos ingredientes activos aislados de *M. azedarach*

(Meliatoxin A<sub>2</sub> y Meliatoxin B<sub>1</sub>), los cuales inhibieron la alimentación cuando las larvas de *S. litura* tuvieron posibilidad de elegir; sin embargo, en pruebas sin esta opción Meliatoxin B<sub>1</sub> no redujo la ingesta. Otros extractos demostraron también mayor actividad antialimentaria sobre *S. littoralis*, cuando las orugas tuvieron acceso al control respecto a ensayos sin posibilidad de elección (Sadek, 2003).

La marcada reducción de la ingesta generada por los extractos ocasionó una mínima ganancia de peso (Figs. 2a y b), como fue observado para otras especies de *Spodoptera* empleando extractos vegetales (Hernández & Vendramim, 1998; Schmidt *et al.*, 1997) o sus principios activos (Isman, 1993; Martínez & Van Emden, 1999).

La mortalidad de las orugas tratadas con extracto se incrementó gradualmente, como queda registrado en las Figs. 3a y b, alcanzando el 100% entre los días 17 y 28; en cambio, al sexto día murieron la totalidad de las larvas ayunadas. Esto sugiere que aun las pequeñas cantidades de alimento consumidas, contribuyeron a la supervivencia de las larvas y el efecto tóxico no sería inmediato. Los valores de mortalidad se ubicaron dentro de los rangos obtenidos por otros investigadores que trabajaron con diferentes especies de lepidópteros (Breuer & De Loof, 1998; Brunheroto & Vendramim, 2001).

La actividad antialimentaria, registrada en los dos tipos de pruebas, puede haber sido la causa directa del bajo peso y la gradual mortalidad de las larvas de *S. eridania*. Los índices nutricionales permitieron observar que los extractos de *M. azedarach* también redujeron la utilización del alimento ingerido, lo que afecta indirectamente al crecimiento y la supervivencia de las larvas.

Las orugas de *S. eridania* alimentadas con extractos más concentrados de fruto y hojas senescentes presentaron tasas relativas de consumo menores en un 40-80% que los controles, así como una disminución del 80-90% de las tasas relativas de crecimiento y del 45-70% en la eficiencia de utilización del alimento ingerido y digerido (Tabla II). Similares declinaciones en estos índices



fueron registradas para otras larvas de Lepidoptera al tratar el alimento con extracto de fruto, hojas o semilla de *M. azedarach* (Schmidt *et al.*, 1997; Nathan, 2006; Nathan & Sehoon, 2006). Una caída en las ECI y ECD indica que mayor cantidad del alimento ingerido y digerido es metabolizado para energía, y menor cantidad es convertido en biomasa (Wheeler & Isman, 2001; Sadek, 2003). El desvío de la energía hacia otras rutas metabólicas, como las implicadas en la detoxificación de aleloquímicos presentes en *M. azedarach*, puede ser la causa de la disminución en las eficiencias (Koul & Isman, 1991; Hernández & Vendramim, 1998). Dicha disminución ocasiona la inhibición del crecimiento larval y es considerada por varios autores como un efecto tóxico crónico (Wheeler & Isman, 2001; Sadek, 2003). La actividad antialimentaria no siempre está acompañada por una reducción en la eficiencia de conversión del alimento ingerido, por ejemplo, extractos de fruto de *M. azedarach* al 5% afectaron las TRCo y TRCr en larvas de *S. frugiperda* sin que se afectara la eficiencia de conversión (Hernández & Vendramim, 1998).

La digestibilidad aproximada, como se observa en la Tabla II, fue el único índice nutricional que no fue afectado por los extractos utilizados. Nathan & Sehoon (2006) registraron un incremento en la DA de otro lepidóptero al aumentar la dosis de extracto. Este efecto ha sido atribuido a la mayor retención del alimento en el intestino del insecto, permitiendo un aumento de la digestión y absorción de nutrientes (Koul & Isman, 1991). Contrariamente a los resultados aquí obtenidos, Nathan (2006) utilizando extracto de semilla de *M. azedarach*, observó una reducción de la digestibilidad larval y de la actividad de enzimas intestinales. La disminución de DA se ha relacionado con daños ocasionados por los extractos sobre células epiteliales y músculo liso del intestino medio, lo que puede disminuir la absorción y digestión del alimento, y afectar su transporte en el intestino (Schmidt *et al.*, 1997).

Las orugas de *S. eridania* que consumieron alimento tratado con extracto

de fruto al 2%, mostraron que sus parámetros nutricionales fueron ligeramente afectados. Esto podría deberse a que insectos generalistas como *S. eridania*, están expuestos a un amplio rango de aleloquímicos producidos por las diferentes plantas hospedadoras, y cuentan con una serie de mecanismos para degradar y desactivar estas sustancias tóxicas, como el sistema enzimático microsomal oxidasa de función mixta (MFO) (Qui *et al.*, 2003). Scriber (1981) observó en orugas de *S. eridania*, una rápida inducción del sistema MFO después de estar expuestas a varios aleloquímicos, lo que le confiere alta capacidad para detoxificar y alimentarse de una amplia variedad de plantas. Las larvas serían entonces, capaces de detectar el extracto de fruto al 2% y evitarlo en pruebas de elección, mientras que al no tener posibilidad de elegir, ingieren el alimento con extracto y a través de sus mecanismos de detoxificación podrían digerirlo y crecer normalmente.

## CONCLUSIONES

La actividad antialimentaria evidenciada en ambos ensayos y el efecto tóxico crónico observado en pruebas sin posibilidad de elección, plantean interesantes perspectivas para el empleo de los extractos de fruto y hojas senescentes de *M. azedarach* en el control de larvas de *S. eridania*; preferentemente el extracto de hoja, ya que fue efectivo en todas las dosis evaluadas. Teniendo en cuenta que los extractos poseen las propiedades de ser económicos y no contaminar el ambiente, pueden aportar herramientas para el Manejo Integrado de Plagas, si bien para ello deberán efectuarse estudios complementarios de campo.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dra. Adriana Salvo por la lectura crítica del manuscrito, al Dr. Arnaldo Mangeaud por su inestimable ayuda en el análisis de datos y a la Agencia Córdoba Ciencia que otorgó una beca de grado para la realización de este trabajo.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. ASCHER, K. R. S. 1993. Nonconventional insecticidal effects of pesticides available from the neem tree *Azadirachta indica*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 22: 433-449.
2. BREUER, M. & A. DE LOOF. 1998. Meliaceae plant preparations as potential insecticides for control of the oak processionary, *Thaumetopoea processionea* (L.) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.* 63/2b: 529-536.
3. BREUER, M. & A. DE LOOF. 2000. Efficacy of an enriched *Melia azedarach* L. fruit extract for insect control. *En: Kleeberg, H. & P. W. Zebitz. (eds.), Practice Oriented Results on Use and Production of Neem Ingredients and Pheromones VI*, Druck & Graphic, Germany, pp. 173-183.
4. BRITO, C. H., J. A. MEZZOMO, J. L. BATISTA, M. DOS BARBOSA LIMA. 2004. Bioatividade de extratos vegetais aquosos sobre *Spodoptera frugiperda* em condições de laboratório. *Man. Int. Plagas Agroecol.* 71: 41-45.
5. BRUNHEROTTO, R. & J. D. VENDRAMIM. 2001. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro. *Neotrop. Entomol.* 30 (3): 455-459.
6. CARPINELLA, M. C., M. T. DEFAGÓ, G. VALLADARES, & S. M. PALACIOS. 2003. Antifeedant and insecticide properties of a limonoid from *Melia azedarach* (Meliaceae) with potential use for pest management. *J. Agric. Food Chem.* 51: 369-374.
7. CARPINELLA, M. C., M. MIRANDA, W. ALMIRÓN, C. G. FERRAYOLI, F. LUDUEÑA ALMEIDA & S. M. PALACIOS. 2007. In Vitro pedicullid and oviductal activity of an extract and oil from fruits of *Melia azedarach* L. *J. Am. Acad. Dermatol.* 56 (2): 250-256.
8. CHAMPAGNE, D. E., M. B. ISMAN & G. H. N. TOWERS. 1989. Insecticidal activity of phytochemicals and extracts of the Meliaceae. *En: Arnason, J. T., R. J. R. Philogène & P. Morand (eds.), Insecticides of Plant Origin*, ACS Symposium Series 387, Washington, pp. 95-109.
9. CHIU, S. F. 1989. Recent advances in research on botanical insecticides in China. *En: Arnason, J. T., R. J. R. Philogène & P. Morand (eds.), Insecticides of plant origin*, ACS Symposium Series 387, Washington, pp. 69-77.
10. CORIA, C., W. ALMIRON, G. VALLADARES, M. C. CARPINELLA, F. LUDUEÑA ALMEIDA, M. T. DEFAGÓ & S. M. PALACIOS. En prensa. Larvicide and oviposition deterrent effects of fruit and leaf extracts from *Melia azedarach* on *Aedes aegypti*. *Bioresour. Technol.*
11. DEFAGÓ, M. T., A. MANGEAUD, V. BENESOVSKY, C. TRILLO, M. C. CARPINELLA, S. M. PALACIOS & G. VALLADARES. En prensa. *Melia azedarach* extracts: a potential tool for insect pest management. *En: Singh, V. V. K. & J. N. Govil (eds.), Recent Progress in Medicinal Plants*. Vol. 23: Phytopharmacology and Therapeutic Values.
12. DEL TÍO, R., E. CANO, P. MARTÍN, J. L. RAMÍREZ & M. E. OCETE. 1996. Ensayos sobre la actividad antialimentaria de extractos de *Melia azedarach* L. y *Mentha suaveolens* E. frente a los noctuidos plaga *Spodoptera littoralis* (Boisid.) y *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Bol. San. Veg. Plagas* 22: 133-140.
13. DILAWARI, V. K., K. SINGH & G. S. DHALIWAL. 1994. Effects of *Melia azedarach* L. on oviposition and feeding of *Pluteolla xylostella* L. *Insect Sci. Appl.* 15: 203-205.
14. DOS SANTOS, K. B., A. M. MENEGUIM & P. M. O. J. NEVES. 2005. Biología de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros. *Neotrop. Entomol.* 34 (6): 903-910.
15. FAGOONEE, I. 1984. Effect of azadirachtin and of a neem extract on food utilization by *Crociodolomia binotalis*. *En: Schmutterer, H. & K. S. Ascher (eds.), Natural pesticides from the Neem tree and other tropical plants*, GTZ, Germany, pp. 211-224.
16. GOMERO L. O. & R. HOSS. 1994. Uso de extractos del «árbol del paraíso» (*Melia azedarach*) en la regulación de plagas del género *Spodoptera*. *En: Gomero, L. O. (ed.), Plantas para proteger cultivos, tecnologías para controlar plagas y enfermedades*, RAAA, Lima, Perú, pp. 89-111.
17. HASSANALI, A. & M. D. BENTLEY. 1987. Comparison of the insect antifeedant activities of some limonoids. *En: Schmutterer, H. & K. S. Ascher (eds.), Natural pesticides from the Neem tree and other tropical plants*, GTZ, Germany, pp. 683-689.
18. HERNÁNDEZ, C. R. & J. D. VENDRAMIM. 1998. Uso de índices nutricionales para medir el efecto insectistático de meliáceas sobre *Spodoptera frugiperda*. *Man. Int. Plagas* 48: 11-18.
19. HUANG, Y., S. H. HO & R. M. KINI. 1999. Bioactivities of safrole and isosafrole on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Econ. Entomol.* 92 (3): 676-683.
20. ISMAN, M. 1993. Growth inhibitory and antifeedant effects of azadirachtin on six noctuids of regional economic importance. *Pestic. Sci.* 38: 57-63.
21. KOUL, O. & M. B. ISMAN. 1991. Effects of azadirachtin on the dietary utilization and development of de variegated cutworm *Peridroma saucia*. *J. Insect Physiol.* 37 (8): 591-598.
22. KRAUS, W., S. BAUMANN, M. BOKEL, U. KELLER, A. KLENK, M. KLINGELE, H. PÖHNL & M. SCHWINGER. 1987. Control of insect feeding and development by constituents of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica*. *En: Schmutterer, H. & K. S. Ascher (eds.), Natural pesticides from the Neem tree and other tropical trees*, GTZ, Germany, pp. 111-125.
23. MACLEOD, J. K., P. D. R. MOELLER, T. F. MOLINSKI & O. KOUL. 1990. Antifeedant activity against *Spodoptera litura* larvae and (C13)-NMR spectral assignments of the meliatoxins. *J. Chem. Ecol.* 16: 2511-2518.
24. MAREGGIANI, G. 2001. Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal. *Man. Int. Plagas* 60: 22-30.
25. MARTÍNEZ, S. S. & H. F. VAN EMDEN. 1999. Sublethal concentrations of azadirachtin affect food intake, conversión efficiency and feeding behaviour of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Bull. Entomol. Res.* 89: 65-71.
26. MIRANDA, M. M. M., M. C. PICANÇO, J. C. ZANUNCIO, L. BACCI & E. M. DA SILVA. 2005. Impact of integrated pest management on the population of leafminers, fruit borers and natural enemies in tomato. *Ciencia Rural* 35 (1): 204-208.
27. NATHAN, S. S. 2006. Effects of *Melia azedarach* on nutritional physiology and enzyme activities of the rice leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae). *Pestic. Biochem. Physiol.* 84 (2): 98-108.

28. NATHAN, S. S. & K. SEHOON. 2006. Effects of *Melia azedarach* L. extract on the teak defoliator *Hyblaea puera* Cramer (Lepidoptera: Hyblaeidae). *Crop Prot.* 25 (3): 287-291.
29. NOVO, J. N., A. R. CAVALLO, C. I. CRAGNOLINI, R. A. NOBILE, E. R. BRACAMONTE, M. CONLES, G. A. RUOSI & A. I. VIGLIANCO. 2001. *Protección vegetal*, Cap. IV: Manejo de plagas animales. Trunfar, Córdoba, Argentina, pp. 255-339.
30. PUNGITORE, C. R., M. GARCÍA, J. C. GIANELLO, C. E. TONN & M. E. SOSA. 2005. Letal and sublethal effects of triterpenes from *Junellia aspera* (Vervencaceae) on the grain storage insect *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 64 (1-2): 45-51.
31. QUI, X., W. LI, Y. TIAN, & X. LENG. 2003. Cytochrome P450 Monooxygenases in the cotton bollworm (Lepidoptera: Noctuidae): tissue difference and induction. *J. Econ. Entomol.* 96 (4): 1283-1289.
32. RIBA, M., E. TORRA & J. MARTÍ. 1996. Bioactividad de extractos de *Melia azedarach* L. sobre taladro del maíz *Sesamia nonagrioides* Lef. *Bol. San. Veg. Plagas* 22: 261-276.
33. RODRÍGUEZ, J. L., J. C. CABRERA-LA ROSA, E. PINEDO, D. PINTO & J. L. ZEDDAM. 2002. Caracterización y utilización de un Nucleopoliedrovirus patógeno a *Spodoptera eridania* y *S. ochrea*. *Man. Int. Plagas* 63: 39-45.
34. SADEK, M. M. 2003. Antifeedant and toxic activity of *Adhatoda vasica* leaf extract against *Spodoptera littoralis* (Lep., Noctuidae). *J. Appl. Entomol.* 127: 396-404.
35. SAXENA, R. C. 1989. Insecticides from Neem. *En: Arnason, J. T., R. J. R. Philogène, & P. Morand (eds.), Insecticides of plant origin*, ACS Symposium Series 387, Washington pp. 111-119.
36. SCHMIDT, G. H., A. I. AHMED & M. BREUER. 1997. Effect of *Melia azedarach* extract on larval development and reproduction parameters of *Spodoptera littoralis* (B.) and *Agrotis ipsilon* (H.) (Lep. Noctuidae). *Phytoparasitica* 26 (4): 164-172.
37. SCHMUTTERER, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree. *Ann. Rev. Entomol.* 35: 271-297.
38. SCHMUTTERER, H. 1995. *The Neem tree Azadirachta indica A. Juss and other Meliaceae plants: Sources of unique products for integrated pest management, medicine, industry and other purposes*. VHC, Weinheim, Germany.
39. SCRIBER, J. M. 1981. Sequential diets, metabolic costs, and growth of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) feeding upon dill, lima bean, and cabbage. *Oecologia* 51: 175-180.
40. SERRA, A. J., A. S. BADIA, & M. R. VILADOT. 1998. Caracterización de la actividad alimentaria de extractos de fruto y semillas de *Melia azedarach* L. y de *Azadirachta indica* A. sobre larvas de lepidóptero *Sesamia nonagrioides* Lef. *Bol. San. Veg. Plagas* 24: 1019-1032.
41. SILVA, G. A., A. T. LAGUNES, J. M. C. RODRÍGUEZ & D. L. RODRÍGUEZ. 2002. Foro: Insecticidas vegetales: una nueva y vieja alternativa para el manejo de plagas. *Man. Int. Plagas Agroecol.* 66: 4-12.
42. VALLADARES, G., M. T. DEFAGÓ, S. M. PALACIOS & M. C. CARPINELLA. 1997. Laboratory evaluation of *Melia azedarach* (Meliaceae) extracts against the elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.* 90 (3): 747-750.
43. VALLADARES, G., D. FERREIRA, M. T. DEFAGÓ, M. C. CARPINELLA & S. M. PALACIOS. 1999. Effects of *Melia azedarach* on *Triatoma infestans*. *Fitoterapia* 70: 421-424.
44. VALLADARES, G., L. GARBIN, M. T. DEFAGÓ, C. CARPINELLA & S. PALACIOS. 2003. Actividad antialimentaria e insecticida de un extracto de hojas senescentes de *Melia azedarach* (Meliaceae). *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 62 (1-2): 53-61.
45. WHEELER, D. A. & M. B. ISMAN. 2001. Antifeedant and toxic activity of *Trichillia americana* extract against the larvae of *Spodoptera litura*. *Entomol. Exp. Appl.* 98: 9-16.