

## Actividad anti-alimentaria de metabolitos secundarios de residuos cítricos sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

Antifeedant activity of secondary metabolites of citrus waste on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

ÁNGEL ARTURO JIMÉNEZ R.<sup>1</sup>, LAURA DANIELA RODRÍGUEZ R.<sup>1</sup>, WALTER MURILLO A.<sup>2</sup>,  
JHON JAIRO MÉNDEZ A.<sup>2</sup> y EVER ANTONI RUEDA L.<sup>2</sup>

**Resumen:** Se evaluó la actividad anti-alimentaria de extractos etanólicos y fracciones purificadas de residuos cítricos (*Citrus sinensis* y *Citrus limonia*) sobre una colonia establecida *in vitro* de *Spodoptera frugiperda*, especie considerada plaga en maíz y otros cultivos en Colombia. Se realizó una extracción etanólica de los residuos (cáscaras y semillas obtenidos a partir de desechos de la producción de jugos) y un posterior fraccionamiento líquido/líquido con n-hexano, diclorometano, acetato de etilo y agua. Los extractos y fracciones se caracterizaron por cromatografía de capa delgada y tamizaje fitoquímico con pruebas en base húmeda para identificar los principales núcleos bioactivos presentes. La actividad antialimentaria se evaluó mediante pruebas de preferencia con discos de *Ricinus communis* impregnados con una solución a diferentes concentraciones (0,25, 0,5, 0,75, 1% m/v) de los extractos y sus fracciones. Se determinaron los índices disuasivo, anti-apetitivo y la tasa de incremento de peso de las larvas. Los ensayos indicaron que la actividad anti-alimentaria fue dosis-dependiente, siendo los extractos y las fracciones en diclorometano de semillas las que mostraron mayor efecto antialimentario. Las fracciones de cáscara no mostraron actividad significativa a las concentraciones evaluadas. Los resultados sugieren que compuestos recuperados de residuos de cítricos, presentan potencial anti-alimentario y se podrían usar en el control de *S. frugiperda*.

**Palabras clave:** Actividad antialimentaria. Residuos cítricos. Metabolitos secundarios. *Spodoptera frugiperda*. Control de plagas.

**Abstract:** This study evaluated the antifeedant activity of ethanol extracts and purified fractions of citrus waste (*Citrus sinensis* and *Citrus limonia*) on an *in vitro* colony of *Spodoptera frugiperda*, a species considered a pest on corn and other crops in Colombia. The citrus residues (peels and seeds obtained from waste from the production of juices), were extracted with ethanol by liquid/liquid fractionation using n-hexane, dichloromethane, ethyl acetate and water. The extracts and fractions were characterized by thin layer chromatography and phytochemical screening tests on wet basis to identify key bioactive cores. The antifeedant activity was evaluated by preference test with discs of *Ricinus communis* impregnated with solution at different concentrations (0.25, 0.5, 0.75, 1% m/v) of the extracts and their fractions. The deterrent, anti-appetitive index and the rate of increase in weight of larvae were determined. The tests indicated that antifeedant activity was dose-dependent, under treatment of dichloromethane extracts and fractions of seeds, which showed greater antifeedant effect. The peels did not show significant activity at the concentrations tested. The results suggest that kind of compounds found in citrus waste, have an antifeedant activity and could be potentially used in the control of *S. frugiperda*.

**Key words:** Antifeedant activity. Citrus wastes. Secondary metabolites. *Spodoptera frugiperda*. Pest control.

### Introducción

El cogollero *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae), es un insecto plaga que ataca, entre otros, cultivos de maíz, algodón y arroz y reduce significativamente sus rendimientos (Busato *et al.* 2004). El control convencional realizado por los agricultores se ha basado en el uso de plaguicidas de síntesis del tipo organoclorados y organofosforados (Shalan *et al.* 2005), que han mostrado un control moderado de la plaga, sin embargo su prolongado uso ha contribuido con el incremento de poblaciones resistentes del insecto, el aumento de la contaminación ambiental por acumulación residual y en algunos casos han tenido un impacto negativo sobre la salud humana (Angier *et al.* 2002; Turgut *et al.* 2010).

Una de las alternativa propuestas para el manejo sostenible de plagas es el uso de bioplaguicidas, los cuales presentan ventajas tales como alta biodegradabilidad, baja toxicidad, así como una alta diversidad estructural que pueden llegar

a retrasar la aparición de resistencia (Raskim *et al.* 2002; Regnault-Roger 2005); aspectos que han impulsado la comercialización de insecticidas de origen botánico, basados en extractos de plantas activas (George *et al.* 2000). En este sentido, el aprovechamiento de residuos agroindustriales como los obtenidos del procesamiento de los cítricos, ofrecen la oportunidad de obtener metabolitos útiles para el control de plagas, tales como compuestos fenólicos, flavonoides y limonoides, de los cuales se ha comprobado su actividad insecticida y antialimentaria, así como su efecto en la regulación del crecimiento de insectos plaga (Murray *et al.* 1996; Alfonso *et al.* 2010). Por tal razón, se considera importante explorar el potencial de residuos agroindustriales como una opción para un manejo sostenible de plagas en cultivos de importancia comercial.

En este estudio se evaluaron los metabolitos secundarios presentes en cáscaras y semillas de *Citrus sinensis* L. Osbeck y *Citrus limonia* L. Osbeck sobre el lepidóptero *Spodoptera frugiperda* en condiciones de laboratorio.

<sup>1</sup> Biólogo, Grupo de Investigación de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima. Barrio Santa Elena. Ibagué, Colombia. <sup>2</sup> Ph. D. Química, Docente departamento de química, grupo GIPRONUT, Universidad del Tolima. Barrio Santa Elena, Ibagué, Colombia. [wmurillo@ut.edu.co](mailto:wmurillo@ut.edu.co). Autor para correspondencia.

### Materiales y métodos

La población de *Spodoptera frugiperda* utilizada fue establecida a partir de posturas proporcionadas por la Corporación para Investigaciones Biológicas, CIB, de Medellín, las cuales posterior a su eclosión y hasta su tercer estadio larvario fueron alimentadas con hojas de *Ricinus communis* L. a las que se les realizó a manera de pre-tratamiento un lavado con una solución de hipoclorito de sodio al 2,0 % y un posterior lavado con agua destilada tal como lo propone Artigas (1994). A partir del tercer estadio larvario se implementó para su alimentación la dieta semi-sintética bio-mix h-89 (modificada) a base de frijol, levadura de cerveza, germen de trigo, ácido ascórbico, metil-p-hidroxibenzoato, formaldehído 40%, agar y agua en concentraciones y tratamientos específicos. Los adultos se alimentaron con una solución de sacarosa al 25% en agua destilada estéril (Murúa *et al.* 2003).

**Obtención de extractos.** Se recolectaron residuos de naranja, *C. sinensis*, en las ventas de jugos de la zona urbana del municipio de Ibagué, Tolima y de limón mandarina, *C. limonia*, en un cultivo en el municipio de Prado (Tolima). Tan pronto se realizó su recolección, fueron separados (cáscaras y semillas) y seleccionados aquellos sin muestras de ataques por hongos e insectos. El día de colecta, para evitar la degradación, el material seleccionado fue sometido a un proceso de secado a 45 °C durante 72 horas y, posteriormente, molido hasta la obtención de un polvo homogéneo que se empacó y almacenó protegido de la luz y de la humedad.

Para el proceso de extracción, se empacaron 170 gramos de cada uno de los materiales y se sometieron a desengrasado con n-hexano en un equipo soxhlet hasta el agotamiento. El material se secó a temperatura ambiente para eliminar el exceso de n-hexano y, en seguida, fue sometido nuevamente a reflujo en soxhlet con etanol al 96% hasta el agotamiento. Los extractos etanólicos (crudos) fueron concentrados a presión reducida en un rotavapor BÜCHI R114 hasta reducir el volumen inicial en un 70% aproximadamente. Después se caracterizaron fitoquímicamente según los parámetros propuestos por Murillo y Méndez (2011), mediante pruebas a la gota utilizadas para la identificación cualitativa de la pre-

sencia de algunos grupos funcionales (Tabla 1). Se realizó un fraccionamiento líquido/líquido de cada extracto crudo, mediante adiciones separadas de volúmenes de 50 mL en orden polaridad de los solventes n-hexano, acetato de etilo, diclorometano y agua, en un embudo de separación, para la obtención de cuatro fracciones por cada extracto crudo. Tanto las fracciones como los extractos crudos fueron llevados a sequedad total, rotulados y almacenados a 4 °C en frascos ámbar (Tabla 1).

**Caracterización física y fitoquímica de los extractos.** A cada una de las muestras vegetales se les determinó el porcentaje de humedad mediante un porcentaje de conversión entre los pesos fresco y seco de cada uno de los residuos, en tanto que a cada uno de los extractos y fracciones se les calculó el contenido de sólidos totales mediante métodos establecidos por Domínguez (1985). Además, mediante reacciones químicas, por vía húmeda y cromatografía de capa delgada, se identificaron los principales núcleos de metabolitos secundarios presentes en los extractos crudos y fracciones obtenidas con cada solvente. También se identificó la limonina por cromatografía de capa fina tanto en los extractos crudos como en las fracciones. Se usó como referente un patrón de limonina (Sigma Aldrich) grado analítico con 95% de pureza y una cantidad igual de los extractos y fracciones a la misma concentración de sólidos totales, utilizando como fase estacionaria cromatoplasas de sílica gel 60 F254 y como fase móvil una mezcla 2:3 de ciclohexano-acetato de etilo, posterior revelado con cloruro de cobalto 2% en ácido sulfúrico al 10% con una exposición a 110 °C durante 15 minutos (Wagner y Blandt 2001).

**Actividad antialimentaria.** Se realizó mediante ensayos de alimentación de corta duración (cinco horas desde el inicio del ensayo o cuando la larva hubiese ingerido el 50% de los discos control), en condiciones de preferencia (con posibilidad de elección entre discos foliares tratados y sin tratar) y no-preferencia (sin posibilidad de elección) (Caballero 2004). Se tomaron los datos del peso de los discos foliares en fresco antes y al final del ensayo; el peso final seco del disco foliar se obtuvo luego de 12 horas de secado a 60 ± 5 °C.

**Tabla 1.** Tamizaje fitoquímico extractos etanólicos de residuos cítricos (cáscaras y semillas) de naranja y limón mandarina.

| Prueba        | Extracto             | Et-OH CN | Et-OH CL | Et-OH SL | Et-OH SN |
|---------------|----------------------|----------|----------|----------|----------|
| AA            | Ninhidrina           | -        | -        | +        | +        |
|               | Antrona              | +        | +        | +        | +        |
|               | Molish               | +        |          | +        | +        |
|               | Benedict             | +++      | +++      | ++       | ++       |
| Carbohidratos | Barfoed (reductores) | ++       | +        | +        | +        |
|               | Seliwanoff           | +        | +        | +        | +        |
| Polisacáridos | Lugol                | +        | +        | +        | -        |
| Polifenoles   | Foling               | +++      | +++      | +++      | -        |
| Taninos       | Cloruro Férrico      | Negro    | Verde    | Verde    | -        |
| Saponinas     | Cromatografía        | -        | +        | +        | -        |
| Cumarinas     | Cromatografía        | +        | +        | -        | -        |

Donde: (-) ausencia del metabolito, (+) presencia concentraciones bajas, (++) y (+++) presencia a una mayor concentración del metabolito evaluado. Los colores negro y verde son indicativos de presencia de taninos pirogálicos y taninos condensados, respectivamente.

**Efecto disuasivo.** Los extractos crudos y sus respectivas fracciones, se alternaron dentro de cada caja de Petri discos tratados (con 0,25; 0,5; 0,75 y 1% del extracto a probar) y discos control (sin tratamiento) de forma que el insecto pudiera elegir. El ensayo se finalizó a las cinco horas desde su inicio o cuando la larva hubiese ingerido el 50% de los discos foliares.

En los ensayos en condiciones de preferencia, se calculó el índice disuasivo (ID) así:

$$ID = [(C-T)/(C+T)] \times 100\%$$

Donde: C = Consumo de discos foliares testigo y T = consumo de discos foliares tratados (Blaney *et al.* 1988).

**Efecto antiapetitivo.** En situaciones de no-elección se colocó en una caja de Petri un disco foliar impregnado con el tratamiento a probar o únicamente con el solvente (caja testigo). El ensayo se finalizó cuando las larvas ingirieron el 50% del disco foliar en las cajas de Petri testigo o a las cinco horas de transcurrido el ensayo.

En los ensayos antialimentarios, en condiciones de no preferencia, se calculó el índice antiapetitivo (IA) con los datos de consumo de discos foliares mediante la siguiente ecuación:

$$IA = [(C-T)/C] \times 100\%$$

Donde: C = ingestión de discos foliares testigo y T = ingestión de discos foliares tratados (Blaney *et al.* 1988).

Valores en los índices superiores al 50% son un referente de actividad antialimentaria considerable para este tipo de evaluaciones según literatura reportada (Suresh *et al.* 2002; Caballero 2004; Capataz *et al.* 2007).

**Actividad antinutricional.** Un posible modo de acción tóxico, se determinó mediante el incremento de peso húmedo de las larvas durante el periodo de tratamiento, como la diferencia entre peso final y el peso inicial. Con esta información se calculó la tasa de incremento de peso de la larva (TIP).

Con los datos de incremento de peso de la larva durante el ensayo en condiciones no preferencia, se calculó la tasa de incremento de peso de la larva (TIP) mediante la siguiente fórmula:

$$TIP = (P/PiL \times T)$$

Donde: P = incremento de peso de la larva durante el ensayo (g de peso seco). PiL = peso inicial de la larva (g de peso seco) y T = tiempo de duración del ensayo (días).

En todos los casos se realizaron ensayos de corta duración (cinco horas o el 50 % de consumo del blanco) con los diferentes extractos y las particiones obtenidas con los solventes antes mencionados a diferentes concentraciones (0,25, 0,5, 0,75 y 1%) aplicados sobre discos foliares de higuera (*Ricinus communis*) de 0,7 cm de diámetro secados hasta evaporación del solvente (Capataz *et al.* 2007).

Para los bioensayos se utilizaron larvas de *S. frugiperda* de tercer estadio con un peso de  $16 \pm 4$  mg, mantenidas en ayuno por seis horas previo al contacto con los discos foliares tratados. El peso de los discos y de las larvas se midió antes y después del ensayo, para calcular los índices de actividad antialimentaria y/o de repelencia del compuesto hacia la larva (Escoubas *et al.* 1993; Caballero 2004).

En los ensayos de actividad antialimentaria se obtuvieron datos de los pesos final seco e inicial fresco de cada uno de los discos y a estos se les halló el peso seco inicial aplicándoles un factor de conversión obtenido en cada ensayo, por medio de un control de humedad de seis discos foliares para

cada dosis que fue colocado a la par del bioensayo. Los datos de consumo de disco foliar por larva se obtuvieron restando al peso seco inicial el peso seco final en cada réplica (Caballero 2004).

**Análisis estadístico.** Los experimentos fueron realizados bajo un diseño completamente al azar, con 10 réplicas por tratamiento para las variables de respuesta índice antiapetitivo y tasa de incremento relativo y cinco réplicas para el índice disuasivo. La unidad experimental consistió en una caja de Petri que contenía una larva de *S. frugiperda* de tercer estadio. Los tratamientos se configuraron a partir del tipo de extracto (extractos crudos, fracciones y solvente de extracción empleado) y las concentraciones empleadas. Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza, previa verificación de la normalidad mediante la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov. Una vez establecidas diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos a un nivel de significancia del 5%, se realizaron pruebas de comparación de medias de Tukey. También se realizaron análisis de regresión lineal simple al interior de cada tratamiento de los índices antialimentarios y la tasa de incremento de peso, mediante el empleo del programa estadístico Infostat versión libre (2008).

## Resultados y discusión

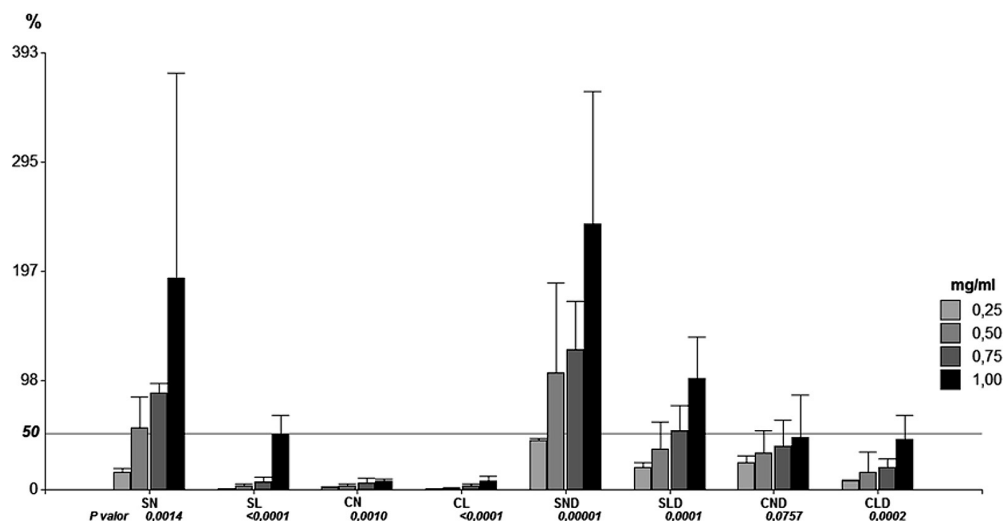
La identificación cualitativa de los principales metabolitos secundarios permitió comparar de manera preliminar la diversidad química de los extractos (Tabla 1). En ambas especies, los extractos de semillas se destacan por tener aminoácidos, saponinas y taninos condensados que cumplen funciones biológicas en la planta como reserva de nutrientes y defensa del embrión. Los extractos de cáscaras contienen mayor cantidad de carbohidratos como azúcares reductores y cumarinas.

Ambos tipos de residuos mostraron la presencia de grupos relacionados estructuralmente con compuestos polifenólicos y polisacáridos como almidón; los cuales afectan directamente la preferencia del insecto para alimentarse, así como el incremento de peso de las larvas durante el ensayo (Moriguchi *et al.* 2003).

En el análisis de los índices antialimentarios se consideró que los valores positivos corresponden a una disminución en el consumo de alimento respecto al control. La diferencia radica en que el índice disuasivo toma en cuenta la sumatoria de los consumos para evaluar una condición de preferencia del insecto, mientras que el antiapetitivo solo divide el consumo de los discos control ya que el insecto no tiene posibilidad de elección.

En la evaluación del índice de disuasión se puede apreciar que los extractos y fracciones más activas fueron los obtenidos de semillas de naranja y limón mandarina (Fig. 1). El único extracto crudo que superó el 50% de actividad fue el de semillas de naranja y su fracción en DCM fue el tratamiento que presentó el porcentaje más alto de actividad. Algunos autores asocian la preferencia en la elección del disco foliar a mecanismos de percepción neuronal y gustativa que disuaden al insecto de alimentarse (Simmonds *et al.* 1992; Zhou *et al.* 2010).

El análisis de varianza del índice de disuasión en condiciones de preferencia para *S. frugiperda* (Tabla 2) muestra que los extractos y fracciones purificadas de las cáscaras no tienen un efecto disuasivo diferencial entre sí. En contra par-



**Figura 1.** Índice disuasivo de los extractos y fracciones purificadas en diclorometano.

Las barras corresponden a la desviación estándar. El p valor corresponde a la significancia estadística del análisis de regresión lineal simple realizado al interior de cada uno de los tratamientos.

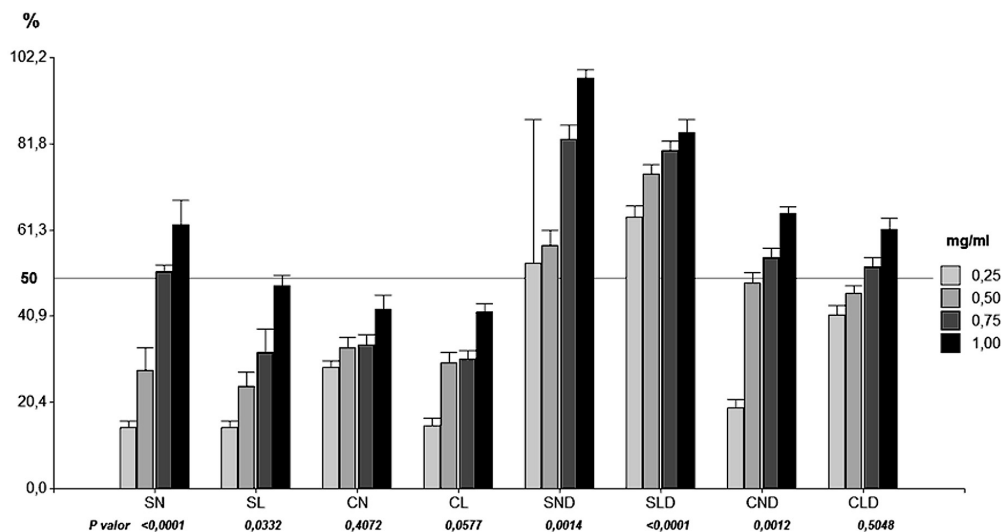
SN: Semillas de naranja, SL: Semillas de limón, CN: Cáscaras de naranja, CL: Cáscaras de limón, SND: Semillas de naranja diclorometano, SLD: Semillas de limón diclorometano, CND: Cáscaras de naranja diclorometano, CLD: Cáscaras de limón diclorometano.

te, tanto el extracto crudo como la fracción de semilla de naranja se diferencian de los demás tratamientos ( $P < 0,0001$ ).

En la figura 2 se observa que tanto las fracciones en diclorometano como el extracto crudo de semilla de naranja superaron el 50% de actividad en el índice antiapetitivo, esto sugiere que en todas las fracciones se concentraron compuestos bioactivos puesto que el efecto antiapetitivo fue mayor con respecto a los extractos crudos. Lo anterior se verificó mediante ANOVA y la prueba de comparación de medias de Tukey, que muestran diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) entre los extractos y fracciones purificadas so-

bre las larvas de *S. frugiperda*, siendo la fracción en DCM de semilla de limón (SLD) el tratamiento con mayor actividad antiapetitiva (Tabla 3).

Con la fracción en diclorometano de semilla de naranja se obtuvo el mayor índice a la dosis más alta (1 mg/ml), no obstante a dosis más bajas la actividad fue superior al 50%. Por el contrario en la fracción de semilla de limón mostró la mayor actividad a concentraciones bajas; la caracterización fitoquímica de los extractos mostró diferencias en el contenido de metabolitos. El extracto de semilla de *C. limonia* contiene polifenoles, taninos y saponinas, ausentes en el extracto



**Figura 2.** Índice antiapetitivo de extractos crudos y fracciones purificadas en diclorometano.

Las barras corresponden a la desviación estándar. El p valor corresponde a la significancia estadística del análisis de regresión lineal simple realizado al interior de cada uno de los tratamientos.

SN: Semillas de naranja, SL: Semillas de limón, CN: Cáscaras de naranja, CL: Cáscaras de limón, SND: Semillas de naranja diclorometano, SLD: Semillas de limón diclorometano, CND: Cáscaras de naranja diclorometano, CLD: Cáscaras de limón diclorometano.



**Tabla 2.** Prueba de comparación de medias índice disuasivo.

| Extracto                | Medias   |
|-------------------------|----------|
| ETOH cáscara de limón   | 3,42 A   |
| ETOH cáscara de naranja | 4,80 A   |
| ETOH semillas limón     | 15,24 AB |
| DCM cáscara limón       | 22,11 AB |
| DCM cáscara de naranja  | 35,92 AB |
| DCM semillas limón      | 52,30 B  |
| ETOH semilla de naranja | 86,98 CD |
| DCM semilla de naranja  | 128,61 C |

Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los extractos y fracciones evaluadas.

de semilla *C. sinensis* (Tabla 1) lo que podría ocasionar la diferencia entre la actividad antialimentaria.

Los ensayos de actividad anti-insecto y su comparación con los perfiles cromatográficos de los extractos crudos y sus fracciones obtenidas, demuestran que dicha actividad se encuentra asociada a la fracción enriquecida con limonoides (fracción en diclorometano) sugiriendo un potencial insecticida para diferentes insectos plaga a partir de las materias primas utilizadas. Estudios semejantes han demostrado que compuestos de naturaleza limonoide como la limonina, epilimonol, diosfenol limonina, nomilina, y obacunona presentan una alta actividad antialimentaria y de inhibición del crecimiento a bajas concentraciones (Alford *et al.* 1987; Mendel *et al.* 1991b; Liu *et al.* 1990; Ruberto *et al.* 2002; Westerlon 2006).

Sin embargo, la actividad antialimentaria de los limonoides cítricos es difícil de comparar, debido a la heterogeneidad de especies de insectos y los protocolos utilizados (Caballero 2004). Además, el impacto de un determinado aleloquímico sobre la fisiología de un insecto depende tanto de la identidad y cantidad de ese compuesto, como de las identidades y cantidades de otros aleloquímicos presentes (Duffey Stout 1996).

La identificación de los extractos y fracciones con presencia de limonina por cromatografía de capa delgada mostraron que los extractos crudos de semilla de las dos especies y sus respectivas fracciones fueron las que presentaron un factor de retención (RF) más representativo en comparación con el patrón de limonina.

Los resultados de la actividad antialimentaria mostrada por los extractos y fracciones en este estudio ponen de manifiesto que estos pueden interactuar de manera diferente potenciando o disminuyendo la actividad, tal y como se mostró en la fracciones en DCM de semilla de limón cuya acción antiapetitiva fue mayor que la del compuesto puro a igual concentración. Incluso dicha interacción puede dar lugar a efectos diferenciales frente a la relación dosis respuesta de los extractos como se puso en evidencia en los resultados del índice antiapetitivo, donde la cantidad e identidad de compuestos limonoides favorece el efecto a dosis bajas de la fracción en diclorometano de semilla de limón (Weathersbee y Tang 2002). La tasa de incremento de peso (TIP) permitió considerar los efectos sobre la fisiología de las larvas y confirmar el modo de acción de los tratamientos. En la figura 3 se evidenció que los extractos tienen una actividad antinutricional que se refleja en la pérdida de peso durante el ensayo en condiciones de no preferencia (Suresh *et al.* 2002).

**Tabla 3.** Prueba de comparación de medias índice antiapetitivo.

| Extracto                | Medias |   |
|-------------------------|--------|---|
| ETOH cáscara de limón   | 29,03  | A |
| ETOH cáscara de naranja | 29,96  | A |
| ETOH semillas limón     | 34,73  | B |
| DCM cáscara limón       | 40,65  | C |
| DCM cáscara de naranja  | 46,60  | D |
| DCM semillas limón      | 51,06  | D |
| ETOH semilla de naranja | 68,15  | E |
| DCM semilla de naranja  | 76,12  | F |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

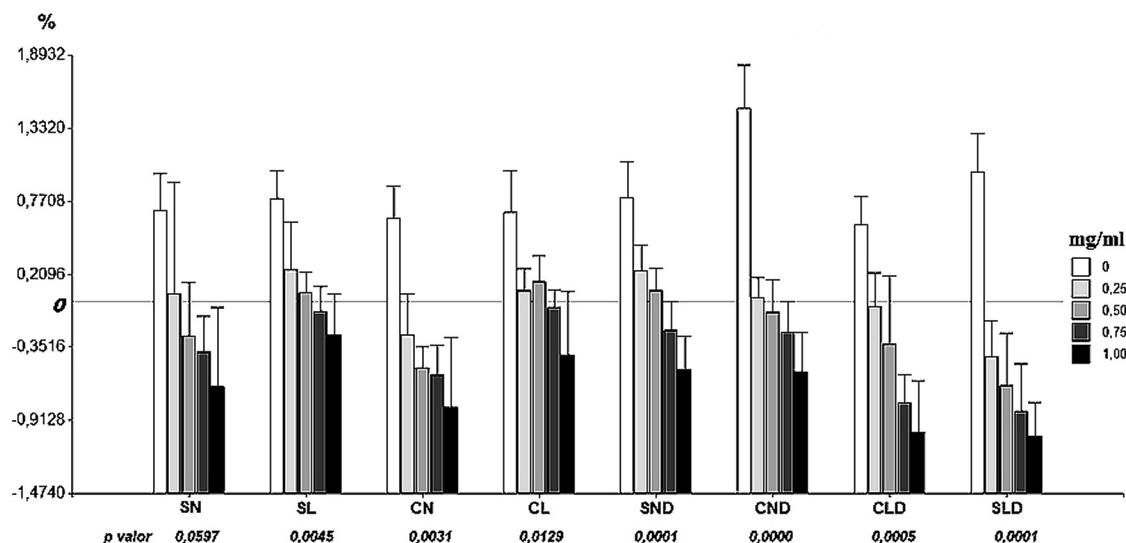
Los insectos alimentados con discos de hojas tratadas con las dosis más altas (0,75% y 1% mg/ml) mostraron una pérdida de peso significativamente diferente al control. En cuanto a los comportamientos de los extractos; la fracción en DCM de semilla tuvo una actividad estadísticamente significativa a la dosis más alta 1% (mg/ml) y las fracciones en diclorometano de semilla de limón y cáscara de naranja presentaron diferencias frente a la dosis blanco pero no entre los tratamientos a diferentes concentraciones del extracto. Esto indica un efecto antinutricional en cada tratamiento independientemente de la dosis. Teniendo en cuenta que cada extracto fue comparado con un control el mismo día del ensayo, para minimizar que la deshidratación pudiera incidir en la pérdida de peso, se propone que la actividad antinutricional de los extractos podría estar relacionada con la toxicidad de los compuestos constituyentes, como por ejemplo; compuestos terpénicos asociados a limonoides, que han sido reportados como compuestos tóxicos sobre diferentes insectos (Alford *et al.* 1987; Mendel *et al.* 1991a).

### Conclusiones

Los resultados de este estudio muestran que es posible recuperar metabolitos secundarios u obtener extractos a partir de residuos cítricos de difícil disposición que pueden llegar a ser útiles en el control biológico del gusano cogollero del maíz, en este sentido las semillas de las dos especies de cítricos, en especial las de *C. sinensis*, presentaron mayor actividad antialimentaria y antinutricional sobre *S. frugiperda*. También se logró evaluar a *C. limonia*, especie promisoría para nuestro departamento y que ha sido poco estudiada en cuanto a su composición química y su actividad biológica; demostrando que los residuos de esta especie pueden llegar a tener una gran importancia en el control de insectos plaga.

### Literatura citada

- ALFONSO, D.; BRINES, N.; PEÑALVO, E.; VARGAS, C.; PEREZ, A.; GÓMEZ, P.; PASCUAL, A.; RUIZ, B. 2010. Cuantificación de materias primas alimentarias de origen vegetal. Desarrollo de sistemas sostenibles de producción y uso de biogás agroindustrial en España. Ministerio de Ciencia e Innovación de España.
- ALFORD, A. R.; CULLEN, J. A.; STORCH, R. H.; BENTLEY, M. D. 1987. Antifeedant activity of limonin against the Colorado



**Figura 3.** Tasa de incremento de peso relativo de extractos crudos y fracciones.

Las barras corresponden a la desviación estándar. El P valor corresponde a la significancia estadística del análisis de regresión lineal simple realizado al interior de cada uno de los tratamientos. SN: Semillas de naranja, SL: Semillas de limón, CN: Cáscaras de naranja, CL: Cáscaras de limón, SND: Semillas de naranja diclorometano, SLD: Semillas de limón diclorometano, CND: Cáscaras de naranja diclorometano, CLD: Cáscaras de limón diclorometano.

- potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology* 80 (3): 575-578.
- ANGIER, J. T.; McCARTY, G. W.; RICE, C. P.; BIALEK, K. 2002. Influence of a riparian wetland on nitrate and herbicides exported from an agricultural field. *Journal Agriculture Food Chemistry* 50 (15): 4424-4429.
- ARTIGAS, N. J. 1994. *Entomología Económica. Insectos de interés agrícola, forestal, médico y veterinario (nativos, introducidos y susceptibles a ser introducidos)*. Ed. Universidad de Concepción, Chile.
- BLANEY, W. M.; SIMMONDS, M. S. J.; LEY, S. V.; JONES, P. S. 1988. Insect antifeedants: a behavioural and electrophysiological investigation of natural and synthetically derived clerodane diterpenoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 46 (3): 267-274.
- BUSATO, G. R.; GRUZTMACHER, A. D.; DE OLIVEIRA, A. C.; VIEIRA, E. A.; ZIMMER, P. A.; KOPP, M. M.; DE BANDEIRA, J.; MAGALAHES, T. 2004. Análise da estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) associadas as culturas de milho e arroz no Rio Grande do Sul. *Neotropical Entomology* 33 (6): 709-716.
- CABALLERO, C. 2004. Efectos de terpenoides naturales y hemisintéticos sobre *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) y *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis de doctorado; Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Biología Vegetal I.
- CAPATAZ, J.; OROZCO, F.; VERGARA, R.; HOYOS, R. 2007. Efecto antialimentario de los extractos de suspensiones celulares de *Azadirachta indica* sobre *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith en condiciones de laboratorio. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín* 60 (1): 3703-3715.
- DOMÍNGUEZ, X. 1985. *Métodos de investigación fitoquímica*. 3ª ed. México: Limusa S.A. p. 229-238.
- DUFFEY, S. S.; STOUT, M. J. 1996. Antinutritive and toxic components of plant defense against insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 32 (1): 3-37.
- ESCOUBAS, P.; LAJIDE, L.; MITZUTANI, J. 1993. An improved leaf-disk antifeedant bioassay and its application for the screening of Hokkaido plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 66 (2): 99-107.
- GEORGE, A. W.; VISSCHER, P. M.; HALEY, C. S. 2000. Mapping quantitative trait loci in complex pedigrees: a two-step variance component approach. *Genetics* 156 (4): 2081-2092.
- LIU, Y. B.; ALFORD, A. R.; RAJAB, M. S.; BENTLEY, M. D. 1990. Effects and modes of action of *Citrus limonoids* against *Leptinotarsa decemlineata*. *Physiology Entomology* 15: 37-45.
- MENDEL, M. J.; ALFORD, A. R.; BENTLEY, M. D. 1991a. A comparison of the effects of limonin on Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, and fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, larval feeding. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 58 (2): 191-194.
- MENDEL, M. J.; ALFORD, A. R.; RAJAB, M. S.; BENTLEY, M. D. 1991b. Antifeedant effects of *Citrus limonoids* differing in A-ring structure on Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) larvae. *Journal of Economic Entomology* 84 (4): 1158-1162.
- MORIGUCHI, T.; KITA, M.; HASSEGAWA, S.; OMURA, M. 2003. Molecular approach to citrus flavonoid and limonoid biosynthesis. *Food, Agriculture and Environment* 1 (1): 22-25.
- MURILLO, E.; MÉNDEZ, J. 2011. Guía metodológica para la detección rápida de algunos núcleos secundarios y caracterización de una droga cruda. Departamento de química, Universidad del Tolima.
- MURRAY, K. D.; GRODEN, E.; DRUMMOND, F. A.; ALFORD, A. R.; STORCH, R. H.; BENTLEY, M. D. 1996. Citrus limonoid effects on Colorado potato beetle larval survival and development. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80 (3): 503-510.
- MURÚA, M. G.; VIRLA, E. G.; DEFAGÓ, V. 2003. Evaluación de cuatro dietas artificiales para la cría de *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) destinada a mantener poblaciones experimentales de himenópteros parasitoides. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas* 29 (1): 43-51.
- RASKIN, I.; RIBNICKY, D.M.; KOMARNYTSKY, S.; ILIC, N.; POULEV, A.; BORISJUK, N.; BRINKER, A.; MORENO, D. A.; RIPOLL, C.; YAKOBY, N.; O'NEAL, J. M.; CORNWELL, T.; PASTOR, I.; FRIDLENDER, B. 2002. Plants and human

- health in the twenty-first century. *Trends in Biotechnology* 20 (12): 522-531.
- REGNAULT-ROGER, C. 2005. New insecticides of plant origin for the third millennium. pp. 1-15. En: Regnault-Roger, C.; Philogene, B. J. R.; Vincent, C. (Eds.). *Biopesticides of plant origin*. Lavoisier, Paris. France. 313 p.
- RUBERTO, G.; RENDA, A.; TRINGALI, C.; NAPOLI, E. M.; SIMMONDS, M. S. 2002. Citrus limonoids and their semisynthetic derivatives as antifeedant agents against *Spodoptera frugiperda* larvae. A structure-activity relationship study. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50: 6766-6774.
- SHAALAN, E. D. V.; CANYON, M.; YOUNES, H.; ABDEL, W.; MANSOUR, A. 2005. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. *El Servier* 31 (8): 1149-1166.
- SIMMONDS, M. S. J.; BLANEY, W. M.; SCHOONHOVEN, L. M. 1992. Effects of larval diet and larval age on the responsiveness of taste neurones of *Spodoptera littoralis* to sucrose. *Journal of Insect Physiology* 38 (4): 249-257.
- SURESH, G.; GEETHA, G.; DANIEL, W. S.; PRADEEP, N. D.; MALATHI, R.; RAJAN, S. S. 2002. Insect antifeedant activity of tetranortriterpenoids from the rutales. A perusal of structural relations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (16): 4484-4490.
- TURGUT, C.; ERDOGAN, O.; ATES, D.; GOKBULUT, C.; CUTRIGHT, T. J. 2010. Persistence and behaviour of pesticides in cotton production in Turkish soils. *Environmental Monitoring and Assessment* 162 (1-4): 201-208.
- WAGNER, H.; BLANDT, S. 2001. Drugs containing sweet-tasting terpene glycosides. pp. 329-334. En: Wagner, H.; Blandt, S. (Eds.). *Plant drug analysis, a thin layer chromatography atlas*. Springer. Segunda edición. Munchen. Alemania. 368 p.
- WEATHERSBEE, A. A.; TANG, Y. Q. 2002. Effect of neem seed extract on feeding, growth, survival, and reproduction of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology* 95 (4): 661-667.
- WESTERLON, R. 2006. Análise fitoquímica, avaliações de bioatividade in vitro e in vivo de *Raulinoa echinata*. Universidade do Vale do Itajaí, Centro de Ciências da Saúde.
- ZHOU, D.; VAN LOON, J. J.; WANG, C. Z. 2010. Experience-based behavioral and chemosensory changes in the generalist insect herbivore *Helicoverpa armigera* exposed to two deterrent plant chemicals. *Journal of Comparative Physiology* 196 (11): 791-799.

Recibido: 1-ago-2012 • Aceptado: 24-abr-2013