

## Relación entre contenido de limonina en residuos cítricos y actividad antialimentaria sobre *Spodoptera frugiperda*

Relationship between content of limonin in citrus waste and antifeedant activity against *Spodoptera frugiperda*

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

**Resumen:** En este estudio se cuantificó la limonina presente en extractos etanólicos de residuos cítricos (cáscaras y semillas) de dos especies (*Citrus sinensis* y *C. limonia*) y sus respectivas fracciones en n-hexano, diclorometano, acetato de etilo y agua por medio de HPLC. Se realizaron ensayos de actividad antialimentaria, medida a través de los índices antialimentarios (disuasorio y antiapetitivo) e índice antinutricional (tasa de incremento de peso), con los respectivos extractos, fracciones diclorometánicas, sobre *Spodoptera frugiperda*. También se relacionaron con el contenido de limonina pura en los tratamientos. Las fracciones diclorometánicas de las semillas de *C. sinensis* y *C. limonia* presentaron un mayor rendimiento de limonina (1,86 ppm y 1,35 ppm, respectivamente) y una mayor actividad antialimentaria. El análisis de regresión lineal mostró que la bioactividad, medida a través de los índices, tiene relación directa con el contenido de limonina de cada tratamiento. Los resultados permitieron establecer que los residuos de cítricos presentan metabolitos de interés que tienen un potencial uso para el control de *S. frugiperda*.

**Palabras clave:** Índice antialimentario. Limonoides. Residuos agroindustriales.

**Abstract:** In this study was quantified limonin in ethanol extracts of citrus waste (peels and seeds) of two species (*C. limonia* and *Citrus sinensis*) and their fractions in n-hexane, dichloromethane, ethyl acetate and water by HPLC. Antifeedant activity assays measured through several antifeedant indices to the respective extracts (dichloromethane fractions) were carried on *Spodoptera frugiperda*. In addition, a relationship between the content of limonin and the treatments was established. The dichloromethane fractions from seeds of *C. sinensis* and *C. limonia* had a higher yield of limonin (1.86 ppm and 1.35 ppm, respectively) and greater antifeedant activity. The linear regression analysis showed that the bioactivity, as measured by the indices, is directly related to the content of limonin on each treatment. The results are promising in terms of the use of citrus waste metabolites as potential control agents of *S. frugiperda*.

**Key words:** Antifeedant index. Limonoids. Agroindustrial wastes.

### Introducción

Numerosos limonoides (Fig. 1) provenientes de las familias Meliaceae, Labiatae y Rutaceae han recibido especial atención debido a que actúan como antialimentarios, toxinas y reguladores del crecimiento de insectos plaga (Morgan 2009; Ambrozin *et al.* 2006; Silva *et al.* 2006). En el caso específico de las rutáceas de interés comercial, estos compuestos se encuentran presentes principalmente en semillas, las cuales luego de procesos agroindustriales se convierten en residuos que representan un problema ambiental y económico debido a que son dispuestos de forma inadecuada y su eliminación es costosa (Alfonso *et al.* 2010).

Estudios recientes sobre estos compuestos han resaltado la importancia de los más de 300 limonoides naturales aislados con características estructurales complejas, diversificadas y con alta actividad biológica (Caballero 2004; Isman 2006; Roy y Saraf 2006); específicamente los limonoides cítricos, obtenidos de residuos agroindustriales (cáscaras y semillas) han presentado actividad antialimentaria significativa

a bajas concentraciones frente a lepidópteros, coleópteros y dípteros, entre otros insectos plaga (Bilal *et al.* 2012; Hafeez *et al.* 2011; Ruberto *et al.* 2002).

En el caso específico de los lepidópteros, un estudio que evaluó los extractos de semillas y cáscaras de *C. sinensis* y *C. limonia*, encontró que aquellos etanólicos y fracciones en diclorometano de residuos cítricos, presentaban actividad antialimentaria sobre *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae) (Jiménez *et al.* 2013). Por lo anterior esta investigación tuvo como objetivo determinar la relación entre el contenido de limonina de los extractos y fracciones diclorometánicas, de residuos de dos especies cítricas (*C. sinensis* y *C. limonia*), y su relación con la actividad antialimentaria sobre *S. frugiperda*, medida a través de pruebas de preferencia, no preferencia, y el establecimiento de índices antialimentarios y antinutricionales, para establecer el potencial de los residuos cítricos aquí evaluados como materia prima para la obtención y formulación de un producto eficaz y de bajo impacto ambiental para el control de *S. frugiperda* y potencialmente a otros lepidópteros de importancia económica.

<sup>1</sup> Biólogos. Grupo de Investigación de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima. Barrio Santa Elena. Ibagué, Colombia. *ldrodriguez@ut.edu.co*. Autor para correspondencia. <sup>2</sup> Ph. D. Departamento de Química, grupo GIPRONUT.

## Materiales y métodos

**Tratamiento del material vegetal.** Se recolectaron residuos agroindustriales (cáscaras y semillas) de *C. sinensis* proveniente de la zona urbana de Ibagué (Tolima-Colombia) y *C. limonia* del municipio de Prado Tolima (3°46'40,40"N 74°57'31,52"O). Cada tipo de residuo se secó a 45 °C durante 72 horas y se pasó por un molino eléctrico Thomas Wiley. Del material homogenizado con un tamiz de 2 mm de poro, se empacaron 170 g de cada tipo en un dedal de interlón y se realizó un desengrasado con n-hexano en un equipo soxhlet hasta el agotamiento. El exceso de n-hexano fue retirado a 35 ± 2 °C y, nuevamente, sometido a reflujo en soxhlet con etanol al 96%. Los extractos etanólicos (crudos) fueron concentrados a presión reducida en un rotavapor BÜCHI R114 y cada uno fue fraccionado líquido-líquido colocando 50 mL y agregándole la misma cantidad de n-hexano, diclorometano (DCM), acetato de etilo y agua sucesivamente, hasta obtener de cada extracto crudo las fracciones correspondientes a los solventes mencionados.

**Caracterización y cuantificación de la limonina.** A cada uno de los extractos y fracciones purificadas se les realizó una identificación preliminar de limonina utilizando cromatografía de capa delgada (CCD) usando limonina (Sigma Aldrich®) como referencia. Las muestras seleccionadas en función de la presencia de limonina, se cuantificaron por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), en un equipo Agilent Technologies serie 1200, con detector de arreglo de diodos, bajo las siguientes condiciones: longitud de onda de 210 nm, columna C18 de 2x150 mm (diámetro de partícula de 5µm), flujo de 0.5 ml/min, volumen de inyección 20 µl, temperatura de corrido 25 °C, fase móvil acetonitrilo:agua para los extractos y fracciones de semillas y acetonitrilo:buffer ácido fórmico pH 2,73 para los extractos y fracciones de cáscaras, en gradiente 30-80% durante 15 minutos con una fase de estabilización de 100% acetonitrilo durante 15 minutos. La curva de calibración se realizó con limonina Sigma Aldrich de pureza HPLC > 95% a una concentración de 5, 10, 20, 30 y 40 ppm (Fig. 1).

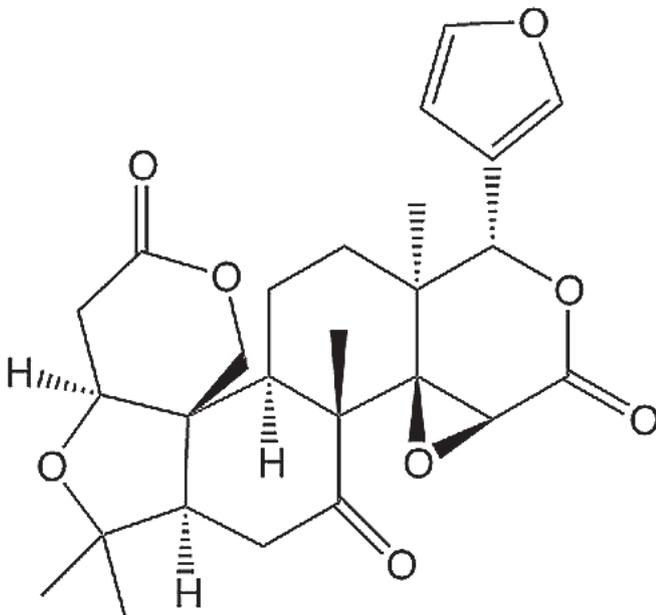


Figura 1. Estructura química de la limonina. Fuente: Los autores.

**Actividad antialimentaria.** Se realizaron ensayos antialimentarios sobre larvas de 120 ± 10 mg de una colonia de *S. frugiperda* establecida en condiciones de laboratorio a partir de posturas proporcionadas por la Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB) de Medellín. Los ensayos se efectuaron en condiciones de preferencia (con posibilidad de elección) y no-preferencia (sin posibilidad de elección) con discos foliares de *Ricinus communis* tratados con 10 µL de soluciones del 0,25, 0,5, 0,75 al 1% de los extractos etanólicos crudos y la fracción diclorometánica de cada residuo y sin tratar con 10µL de agua o el solvente usado en la dilución. Los extractos crudos se suspendieron en agua mientras que la fracción diclorometánica en una mezcla diclorometano:agua en proporciones (1:4) (Caballero 2004; Jiménez *et al.* 2013); se tomaron los datos del peso inicial 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.

Con el fin de evidenciar la relación entre la limonina y los resultados obtenidos, se realizaron ensayos con el limonoide a 10 y 50 ppm teniendo en cuenta las condiciones utilizadas en los ensayos anteriormente mencionados.

**Ensayos de preferencia.** Discos foliares tratados con la limonina y control (sin tratamiento), se alternaron dentro de cada caja de Petri de forma que el insecto pudiera elegir. El ensayo se dio por finalizado trascurridas cinco horas desde el inicio del ensayo o cuando la larva hubiese ingerido el 50% de los discos foliares. Con la información del consumo de discos foliares se calculó por cada larva el índice disuasorio (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; Jiménez *et al.* 2013).

**Ensayos de no preferencia.** En situaciones de no-elección se colocó en una caja de Petri un disco foliar impregnado con la limonina en solución acetonitrilo:agua (1:4). El ensayo 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. Con los datos del consumo de discos foliares se calculó el índice antiapetitivo (IA) 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; Jiménez *et al.* 2013).

**Análisis estadístico.** Los datos obtenidos se analizaron mediante un diseño experimental 2x2 con 10 réplicas para el índice antiapetitivo y cinco réplicas para el índice disuasorio, en el que se evaluaron las variables tratamiento (cuatro extractos, sus fracciones diclorometánicas) y su dosificación. Se verificó la normalidad de los datos mediante la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov; se realizó un análisis de varianza ANOVA de dos vías; usando el test de Tukey para las comparaciones múltiples, la información fue procesada con el programa Infostat versión libre 2008.

Para determinar la relación entre la actividad y la concentración de la limonina, se realizaron análisis de regresión simple relacionando los índices antialimentarios en función del contenido de limonina en los extractos y fracciones mediante

el programa Statgraphics Centurion XV versión 15.2.06. Se determinó el p valor del modelo y el intercepto, se calculó el error estándar del estimado, el error absoluto medio (MAE) y el estadístico de Durbin-Watson (DW) para determinar si existió correlación significativa entre ellos.

### Resultados y discusión

**Cuantificación de limonina.** Las muestras con mayor rendimiento de limonina fueron las fracciones diclorometánicas obtenidas de semillas de *C. sinensis* y *C. limonia* con 1,86 ppm y 1,35 ppm, seguidas del extracto etanólico de *C. limonia* con 0,204 ppm de limonina en relación peso/peso con la materia seca de cada residuo; de esta manera las fracciones diclorometánicas de semillas mostraron mayor efecto antialimentario, tal como lo habían reportado Jiménez *et al.* (2013). Estos resultados se lograron correlacionar con la cantidad de limonina presente y el incremento en la actividad de las fracciones diclorometánicas guardó relación directa con la concentración de la limonina indicando que es el principal metabolito activo en las muestras evaluadas; lo cual es consistente con otros estudios, en los cuales se demostró que este limonoide tiene acción anti-apetitiva y

disuasoria de la alimentación (Ruberto *et al.* 2002; Vikram *et al.* 2007).

El porcentaje de limonina de cada uno de los extractos y correspondientes fracciones diclorometánicas, mostró que las semillas son el tipo de residuo con mayor contenido de este limonoide, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Manners *et al.* (2003) y Manners y Breksa (2004). Igualmente se realizó la cuantificación de limonina en semillas y cáscaras de *C. limonia*, comparándola bajo el mismo método cromatográfico usado para *Citrus sinensis* (Vikram *et al.* 2007) mostrando al diclorometano como un solvente adecuado para la extracción de metabolitos de naturaleza limonoide en los extractos crudos.

La limonina, presentó relación directa estadísticamente significativa con la actividad disuasoria, lo que se evidencia en el análisis de regresión lineal del índice disuasorio (Tabla 1). Lo anterior se aplicó para los extractos etanólicos de semilla de naranja y cáscaras de naranja y limón, y las fracciones diclorometánicas de cáscara de naranja, semillas de limón y semillas de naranja, exceptuando el extracto etanólico de semillas de limón y la fracción en diclorometánica de cáscaras de limón, que en este caso no evidenciaron una relación estadísticamente significativa entre dicha actividad y la con-

**Tabla 1.** Análisis de regresión lineal del índice disuasorio vs concentración de la limonina en extractos etanólicos y fracciones diclorometánicas.

Muestra	Concentración del extracto (%)	Concentración limonina (mg/ extracto seco)	% índice antiapetitivo	Coefficiente de correlación	Valor p del modelo
SN	0,25	6,00x10 <sup>-04</sup>	14,68	0,994	0,0057
	0,5	1,20x10 <sup>-03</sup>	30,64		
	0,75	1,80x10 <sup>-03</sup>	57,67		
	1	2,40x10 <sup>-03</sup>	64,61		
SL	0,25	1,53x10 <sup>-01</sup>	15,00	0,992	0,0078
	0,5	3,05x10 <sup>-01</sup>	23,04		
	0,75	4,58x10 <sup>-01</sup>	33,8		
	1	6,10x10 <sup>-01</sup>	47,98		
CL	0,25	2,50x10 <sup>-05</sup>	28,94	0,952	0,0479
	0,5	5,00x10 <sup>-05</sup>	31,83		
	0,75	7,50x10 <sup>-05</sup>	35,69		
	1	1,00x10 <sup>-04</sup>	42,44		
SND	0,25	4,45x10 <sup>-02</sup>	33,95	0,995	0,0047
	0,5	8,90x10 <sup>-02</sup>	58,65		
	0,75	1,34x10 <sup>-01</sup>	82,12		
	1	1,78x10 <sup>-02</sup>	97,87		
SLD	0,25	1,78x10 <sup>-02</sup>	64,1	0,992	0,0083
	0,5	3,55x10 <sup>-02</sup>	74,2		
	0,75	5,33x10 <sup>-02</sup>	79,65		
	1	7,10x10 <sup>-02</sup>	86,54		
CLD	0,25	7,50x10 <sup>-04</sup>	42,3	0,936	0,0643*
	0,5	1,50x10 <sup>-04</sup>	46,65		
	0,75	2,25x10 <sup>-04</sup>	52,35		
	1	3,00x10 <sup>-04</sup>	62,94		

\* Indica que el modelo no es estadísticamente significativo a un nivel de confianza de 95%. SN: Extracto etanólico semillas de naranja; SL: Extracto etanólico semillas de limón; CL: Extracto etanólico cáscaras de limón; SND: fracción diclorometánica semillas de naranja; SLD: fracción diclorometánica semilla de limón; CLD: fracción diclorometánica cáscaras de limón.

centración de limonina (Tabla 1). Desde el punto de vista de la composición química, esto podría mostrar que la actividad biológica puede estar influenciada por sinergismos con otros compuestos de naturaleza limonoide, tales como nomilina y obacunona los cuales han sido reportados en cítricos (Bilal *et al.* 2012; Ruberto *et al.* 2002; Vikram *et al.* 2007); en este caso, la fracción en DCM de semilla de naranja mostró la mayor actividad disuasoria relacionada directamente con la concentración de la limonina, con un coeficiente de correlación de 0,9603, observación que se reafirma con el valor del estadístico r-cuadrado del modelo ajustado que explicó el 92,22% de variabilidad.

La comparación gráfica de los valores estimados calculados para el índice antialimentario, frente a la concentra-

ción de limonina, cuando ésta es igual a 50 ppm muestra de igual forma que la fracción en diclorometano de cáscaras de limón, presentó un mayor índice antiapetitivo que la limonina pura (Tabla 2); esto de nuevo conduce a suponer que existen compuestos activos diferentes a la limonina que pueden actuar de manera conjunta potenciando la bioactividad sobre *S. frugiperda*; por tal motivo el uso de extractos a base de residuos cítricos se convierte en una alternativa para el control de insectos plaga. Es de aclarar que los demás extractos y fracciones presentan una relación estadísticamente significativa con el contenido de limonina (Tabla 3).

La aplicación del coeficiente de correlación a los resultados obtenidos de la tasa de incremento de peso (Jiménez *et al.*

**Tabla 2.** Índice antiapetitivo, disuasorio y tasa de incremento de peso (TIP) de limonina (Sigma Aldrich®) sobre larvas de *S. frugiperda*.

Concentración limonina pura (ppm)	Índice antiapetitivo %	Índice disuasorio%	Tasa incremento de peso
BLANCO	0	0	4,3x10 <sup>-02</sup>
10	27,68	60,51	-1,8x10 <sup>-03</sup>
50	46,59	104,33	-3,8x10 <sup>-03</sup>

**Tabla 3.** Análisis de regresión lineal del índice antiapetitivo vs concentración de la limonina presente en extractos etanólicos y fracciones diclorometánicas.

Muestra	Concentración del extracto (%)	Concentración de la limonina (mg/ extracto seco)	Índice disuasorio %	Coefficiente de correlación	Valor P del modelo
SN	0,25	6,0x10 <sup>-04</sup>	15,54	0,959	0,0410
	0,5	1,2x10 <sup>-03</sup>	55,75		
	0,75	1,8x10 <sup>-03</sup>	86,52		
	1	2,4x10 <sup>-03</sup>	190,12		
SL	0,25	1,5x10 <sup>-01</sup>	0,71	0,842	0,1585*
	0,5	3,1x10 <sup>-01</sup>	3,47		
	0,75	4,6x10 <sup>-01</sup>	7,17		
	1	6,1x10 <sup>-01</sup>	49,63		
CL	0,25	2,5x10 <sup>-05</sup>	0,86	0,945	0,0548
	0,5	5,0x10 <sup>-05</sup>	1,25		
	0,75	7,5x10 <sup>-05</sup>	3,80		
	1	1,0x10 <sup>-04</sup>	7,77		
SND	0,25	4,5x10 <sup>-02</sup>	44,12	0,960	0,0397
	0,5	8,9x10 <sup>-02</sup>	105,12		
	0,75	1,3x10 <sup>-01</sup>	126,10		
	1	1,8x10 <sup>-02</sup>	239,08		
SLD	0,25	1,8x10 <sup>-02</sup>	19,98	0,959	0,0410
	0,5	3,6x10 <sup>-02</sup>	36,55		
	0,75	5,3x10 <sup>-02</sup>	52,67		
	1	7,1x10 <sup>-02</sup>	99,99		
CLD	0,25	7,5x10 <sup>-04</sup>	7,95	0,884	0,1159*
	0,5	1,5x10 <sup>-04</sup>	15,50		
	0,75	2,3x10 <sup>-04</sup>	20,20		
	1	3,0x10 <sup>-04</sup>	44,79		

\* Indica que el modelo no es estadísticamente significativo con un nivel de confianza de 95%. SN: Extracto etanólico semillas de naranja; SL: Extracto etanólico semillas de limón; CL: Extracto etanólico cáscaras de limón; SND: fracción diclorometánica semillas de naranja; SLD: fracción diclorometánica semilla de limón; CLD: fracción diclorometánica cáscaras de limón.

**Tabla 4.** Análisis de regresión lineal de la tasa de incremento de peso vs concentración de limonina.

Muestra	Concentración del extracto (%)	Concentración de la limonina (mg/ extracto seco)	% tasa de incremento de peso	Coefficiente de correlación	Valor P del modelo
SN	0,25	$6,00 \times 10^{-04}$	$5,8 \times 10^{-04}$	0,958	0,0101
	0,5	$1,20 \times 10^{-03}$	$-2,6 \times 10^{-03}$		
	0,75	$1,80 \times 10^{-03}$	$-3,9 \times 10^{-03}$		
	1	$2,40 \times 10^{-03}$	$-6,5 \times 10^{-03}$		
SL	0,25	$1,53 \times 10^{-01}$	$2,5 \times 10^{-03}$	0,954	0,0118
	0,5	$3,05 \times 10^{-01}$	$6,6 \times 10^{-04}$		
	0,75	$4,58 \times 10^{-01}$	$-7,5 \times 10^{-04}$		
	1	$6,10 \times 10^{-01}$	$-2,6 \times 10^{-03}$		
CL	0,25	$2,50 \times 10^{-05}$	$8,2 \times 10^{-04}$	0,925	0,0244
	0,5	$5,00 \times 10^{-05}$	$1,6 \times 10^{-03}$		
	0,75	$7,50 \times 10^{-05}$	$-4,3 \times 10^{-04}$		
	1	$1,00 \times 10^{-04}$	$-4,1 \times 10^{-03}$		
SND	0,25	$4,45 \times 10^{-02}$	$2,4 \times 10^{-03}$	0,983	0,0026
	0,5	$8,90 \times 10^{-02}$	$8,1 \times 10^{-04}$		
	0,75	$1,34 \times 10^{-01}$	$-2,2 \times 10^{-03}$		
	1	$1,78 \times 10^{-02}$	$-5,2 \times 10^{-03}$		
SLD	0,25	$1,78 \times 10^{-02}$	$-4,2 \times 10^{-03}$	0,869	0,0559*
	0,5	$3,55 \times 10^{-02}$	$-6,5 \times 10^{-03}$		
	0,75	$5,33 \times 10^{-02}$	$-8,5 \times 10^{-03}$		
	1	$7,10 \times 10^{-02}$	$-1,0 \times 10^{-02}$		
CLD	0,25	$7,50 \times 10^{-04}$	$-4,1 \times 10^{-04}$	0,780	0,1194*
	0,5	$1,50 \times 10^{-04}$	$-3,2 \times 10^{-03}$		
	0,75	$2,25 \times 10^{-04}$	$-7,7 \times 10^{-03}$		
	1	$3,00 \times 10^{-04}$	$-1,0 \times 10^{-02}$		

\* Indica que el modelo no es estadísticamente significativo con un nivel de confianza de 95%. SN: Extracto etanólico semillas de naranja; SL: Extracto etanólico semillas de limón; CL: Extracto etanólico cáscaras de limón; SND: fracción diclorometánica semillas de naranja; SLD: fracción diclorometánica semilla de limón; CLD: fracción diclorometánica cáscaras de limón.

2013), indicó que existe una relación estadísticamente significativa entre las dos variables tasa de incremento de peso y concentración de limonina (Tabla 4), lo que se traduce en un efecto dosis dependiente entre la limonina y la disminución de la tasa de incremento de peso de las larvas. Estos resultados concuerdan con resultados de Ruberto *et al.* (2002) con la limonina, mostrando así la actividad tóxica de este limonoide sobre larvas de *S. frugiperda*. En este caso las fracciones en diclorometano de semillas de limón y cáscaras de limón no presentaron una relación directa con el contenido de limonina ya que presentaron un valor  $P > 0,05$  y un  $R^2 < 90\%$  indicando nuevamente la interacción entre compuestos diferentes a la limonina (Tablas 1, 3 y 4).

### Conclusión

La evaluación del contenido de limonina presente en residuos cítricos y la determinación de la relación directa que existe entre compuestos de naturaleza limonoide y la actividad antialimentaria sobre *S. frugiperda*, sugieren un potencial uso y aprovechamiento de estos residuos, considerados en la actualidad como material de desecho. Esto abre la posibilidad de usar extractos ricos en limonoides para el control de lepidóp-

teros de importancia económica, a través de la implementación de bioinsumos que se articulen a programas de manejo integrado de plagas (MIP).

### Literatura citada

- ALFONSO, D.; BRÍÑES, N.; PEÑALVO, E.; VARGAS, C.; PÉREZ, 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.
- AMBROZIN, A. R. P.; LEITE, A. C.; BUENO, F. C.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; BUENO, O. C.; SILVA, M. F. das G. Fernandes da; Pagnocca, F. C.; Hebling, M. J. A.; Bacci Jr., M. 2006. Limonoids from andiroba oil and *Cedrela fissilis* and their insecticidal activity. Journal of the Brazilian Chemical Society 17 (3): 542-547.
- BILAL, H.; AKRAM, W.; ALI-HASSAN, S. 2012. Larvicidal activity of Citrus limonoids against *Aedes albopictus* larvae. Journal of Arthropod-borne Diseases 6 (2): 104.
- 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.
- CABALLERO, C. 2004. Efectos de terpenoides naturales y hemisintéticos sobre *Leptinotarsa decemlineata* (Say)(Coleoptera: Chrysomelidae) y *Spodoptera exigua* (Hubner)(Lepidoptera: Noctuidae). Memoria Doctoral, Universidad Complutense de Madrid. Fac. de Cs. Biológicas. Madrid, España
- HAFEEZ, F.; AKRAM, W.; SHAALAN, E. A. A. 2011. Mosquito larvicidal activity of citrus limonoids against *Aedes albopictus*. *Parasitology Research* 109 (1): 221-229.
- ISMAN, M. B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* 51: 45-66.
- JIMÉNEZ, A.; RODRÍGUEZ, L.; MURILLO, W.; MÉNDEZ, J.; RUEDA, A. 2013. Actividad anti-alimentaria de metabolitos secundarios de residuos cítricos sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Colombiana de Entomología* 39 (1): 113-119.
- MANNERS, G. D.; BREKSA, A. P. 2004. Identifying citrus limonoid aglycones by HPLC-ESI/MS and HPLC-ESI/MS techniques. *Phytochemical Analysis* 15 (6): 372-381.
- MANNERS, G. D.; JACOB, R. A.; ANDREW III, P.; SCHOCH, T. K.; HASEGAWA, S. 2003. Bioavailability of citrus limonoids in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (14): 4156-4161.
- MORGAN, E. D. 2009. Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 17 (12): 4096-4105.
- ROY, A.; SARAF, S. 2006. Limonoids: overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 29 (2): 191-201.
- 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 Agricultural and Food Chemistry* 50 (23): 6766-6774.
- SILVA, O. S.; PROPHIRO, J. S.; NOGARED, J. C.; KANIS, L.; EMERICK, S.; BLAZIUS, R. D.; ROMAO, P. R. 2006. Larvicidal effect of andiroba oil, *Carapa guianensis* (Meliaceae), against *Aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association* 22 (4): 699-701.
- VIKRAM, A.; JAYAPRAKASHA, G. K.; PATIL, B. S. 2007. Simultaneous determination of citrus limonoid aglycones and glucosides by high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 590 (2): 180-186.

Recibido: 16-feb-2014 • Aceptado: 3-nov-2014

Citación sugerida:

RODRÍGUEZ R., L. D.; JIMÉNEZ R., A. A.; RUEDA L., E. A.; MÉNDEZ A., J. J.; MURILLO A., W. 2014. Relación entre contenido de limonina en residuos cítricos y actividad antialimentaria sobre *Spodoptera frugiperda*. *Revista Colombiana de Entomología* 40 (2): 164-169. Julio-Diciembre 2014. ISSN 0120-0488.