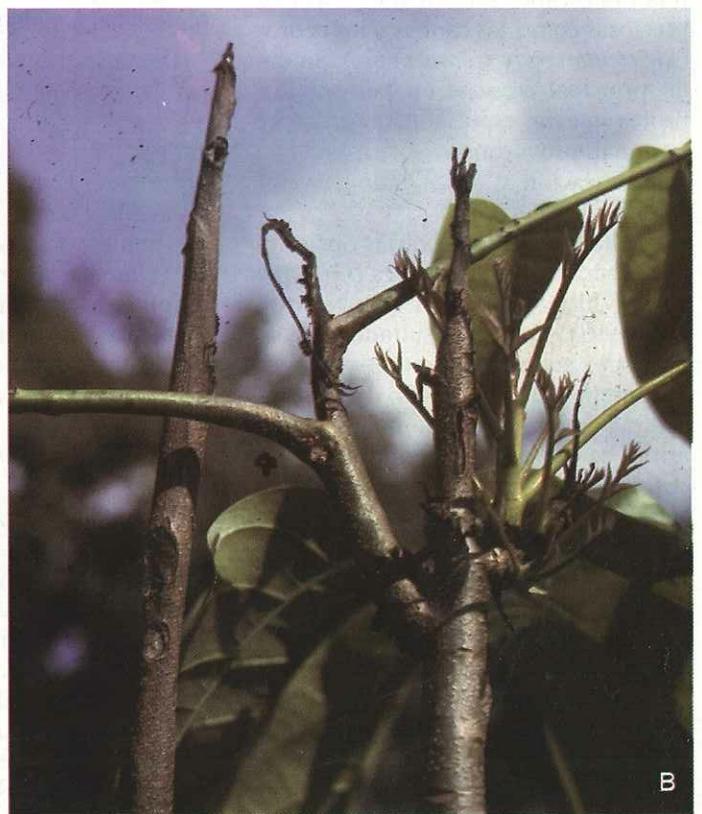


# Fagodisuasión de extractos vegetales en larvas de *Hypsipyla grandella*

Al evaluar el efecto de algunos extractos vegetales sobre la alimentación de la larva de *H. grandella*, una de las principales plagas forestales en América Latina y el Caribe, los investigadores determinaron que los tres extractos evaluados dieron fuertes indicios de causar fagodisuasión sobre las larvas de esta especie.

Fernando Mancebo  
Luko Hilje  
Gerardo A. Mora  
Rodolfo Salazar



Larva de *H. grandella* barrenando un brote de caoba (A) con la consecuente mortalidad de brotes, que ocasiona la proliferación de brotes múltiples y (B) la deformación o ramificación del tallo (Fotos: Luko Hilje).

**Resumen**

En el laboratorio se estudió el efecto fagodisuasivo causado por tres extractos vegetales sobre la larva de *H. grandella*: madera y follaje de hombre grande (*Quassia amara*, Simaroubaceae) y follaje de ruda (*Ruta graveolens*, Rutaceae). Se realizaron bioanálisis en los que se expusieron larvas del tercer instar sobre discos foliares de cedro (*Cedrela odorata*) impregnados con concentraciones crecientes (0.1, 0.136, 1.0, 3.162 y 10%) de cada extracto. También se registró el porcentaje del área foliar del disco consumida y el número de larvas muertas cada 24 h. Posteriormente, los tres extractos se evaluaron en el invernadero, a una concentración de 10%, colocando tres larvas del primer instar de *H. grandella* en brotes terminales de cedro tratados con cada extracto; se registró el número de perforaciones y de montículos en cada arbolito. Los bioanálisis revelaron fagodisuasión causada por los tres extractos; fue mayor con la madera de hombre grande. Esta se confirmó en el invernadero, pero no la de extractos de follaje de hombre grande y de ruda.

**Palabras claves:** *Hypsipyla grandella*; Meliaceae; extractos vegetales; *Quassia amara*; hombre grande; Simaroubaceae; fagodisuasión.

**Summary**

**Antifeedant activity of plant extracts on *Hypsipyla grandella* larvae.** The antifeedant activity caused by the following plant extracts on the mahogany shoot borer larvae (*Hypsipyla grandella*) was studied in the laboratory: bitterwood (*Quassia amara*) wood and leaf extracts, and a common rue (*Ruta graveolens*) leaf extract. Bioassays were carried out by exposing 3rd instar larvae to Spanish cedar leaf discs impregnated with increasing concentrations (0.1, 0.316, 1.0, 3.162 and 10%) of each extract. The percentage of foliar area consumed within 24 h, as well the number of dead larvae afterwards, were recorded. In addition, a greenhouse experiment was carried out, in which terminal shoots of Spanish cedar trees were treated with the highest concentration of each extract (10%) and exposed to three 1<sup>st</sup> instar *H. grandella* larvae. Both the number of attacks and frass piles in each tree were recorded. Bioassays showed antifeedant activity in all the extracts, but it was highest with the bitterwood wood extract. The latter finding was confirmed in the greenhouse experiment, but both bitterwood and common rue foliage extracts did not show antifeedant activity.

**Key words:** *Hypsipyla grandella*; Meliaceae; plant extracts; *Quassia amara*; bitterwood; Simaroubaceae; antifeedants.

**H**ypsipyla grandella (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) es considerada como una de las principales plagas forestales en América Latina y el Caribe; su larva ataca especies preciosas como, las caobas y los cedros (*Swietenia* spp. y *Cedrela* spp.). Su daño principal consiste en perforar los brotes nuevos, especialmente el brote terminal, provocando su deformación o ramificación y reduciendo el valor comercial del árbol.

Se han investigado varias opciones para el control de esta plaga (Grijpma 1973, Whitmore 1976a, 1976b, Newton et al. 1993), pero los resultados han sido poco factibles operativa y económicamente. Dado el grado de tolerancia tan bajo -apenas una larva por árbol- se justificaría el empleo de un enfoque preventivo basado en sustancias que afecten el comportamiento o la fisiología de *H. grandella*.

En tal sentido, cabe la posibilidad de explorar el efecto inhibitorio de dichas sustancias sobre la alimentación (fagodisuasión), que se observó en pruebas preliminares (Shannon et al. 1997), y eventualmente existiría la posibilidad de utilizar extractos vegetales en forma rústica o semi-rústica, como se hace con el nim (*Azadirachta indica*, Meliaceae) para otras plagas

(Schmutterer et al. 1982). Por tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de algunos extractos vegetales sobre la alimentación de la larva de *H. grandella*.

**Materiales y métodos**

Los experimentos se realizaron en las cámaras bioclimáticas en el CATIE, en Turrialba, Costa Rica (Percival I-35L), a 22°C, 80-90% HR y fotoperíodo de 12:12 (L:O). Se efectuaron bioanálisis con los siguientes extractos: madera y follaje de hombre grande (*Quassia amara*, Simaroubaceae), y follaje de ruda (*Ruta graveolens*, Rutaceae). Se utilizaron larvas de tercer instar, seleccionadas de colonias de *H. grandella* criadas sobre follaje tierno de cedro y dieta artificial (Shannon et al. 1997).

Los extractos se seleccionaron a partir de un tamizado preliminar en el que se evaluó la actividad biológica (fagodisuasión, inhibición del desarrollo o mortalidad) de 29 extractos de diferentes estructuras de plantas (hojas, madera, botones florales, bulbos, frutos y semillas) pertenecientes a 15 familias (Mancebo et al. 2000a). Su preparación se hizo en el Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA), de la Universidad de Costa Rica. Además se inclu-

yeron varios productos comerciales derivados de plantas.

Se efectuaron bioanálisis, utilizando concentraciones crecientes (0.1, 0.136, 1.0, 3.162 y 10%) de cada uno de los tres extractos citados, a los que se agregó un agente tensoactivo (Nu film 17 al 0,03%) para favorecer su distribución sobre la superficie de la hoja. Estos tratamientos se compararon con dos testigos relativos (metanol al 70%, y Nu film) y uno absoluto (agua destilada). Las abreviaturas de los testigos son **Agua** (agua destilada), **Met** (metanol) y **A. tens** (agente tensoactivo). Las disoluciones se prepararon poco tiempo antes de aplicarlas; se empleó agua destilada como vehículo de aplicación.

Los tratamientos se aplicaron a pequeños discos (2,3 cm) de follaje tierno de cedro, mediante su inmersión por 10 segundos en frascos conteniendo cada tratamiento. Al secarse, 30 min. después, los discos se colocaron individualmente en frascos de vidrio de 30 ml, junto con una larva que había estado en ayuno por 3 h.

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones. Cada unidad experimental constó de siete larvas, excepto el testigo absoluto (14 larvas). Los bloques estuvieron representados por bande-

jas plásticas, dentro de ellas los frascos fueron aleatorizados. Después de un período de exposición de 24 h cada larva se transfirió a un frasco que contenía 6 ml de dieta artificial, para que completara su desarrollo.

Las variables de respuesta fueron el porcentaje del área foliar del disco consumida (a las 24 h), según una escala visual predefinida; el número de larvas muertas (cada 24 h); el tiempo de duración de cada instar larval y la pupa; y el peso de la pupa.

Posteriormente, se realizó un experimento en el invernadero, donde los tres extractos se compararon con extractos que habían mostrado otros tipos de actividad biológica (Mancebo *et al.* 2000a). Para esto se colocaron tres larvas del primer instar de *H. grandella* en brotes terminales de cedro (*Cedrela odorata*) tratados con la concentración más alta de cada extracto (10%). Las plantas se distribuyeron en un diseño completamente al azar, con diez plantas por cada tratamiento. Las variables de respuesta fueron el número de perforaciones en el brote terminal y en las axilas de las hojas compuestas ("ramas"), así como el número de montículos; esto se hizo a los 2, 4, 8 y 16 días después de la aplicación de las sustancias.

Se realizaron análisis de varianza (ANDEVA), utilizando la prueba de F; para comparar las medias de cada tratamiento se utilizó la prueba de Tukey, con un valor de significancia fijo de 5% ( $\alpha=0,05$ ). Se utilizó el paquete estadístico SAS (SAS Institute 1985).

### Resultados y discusión

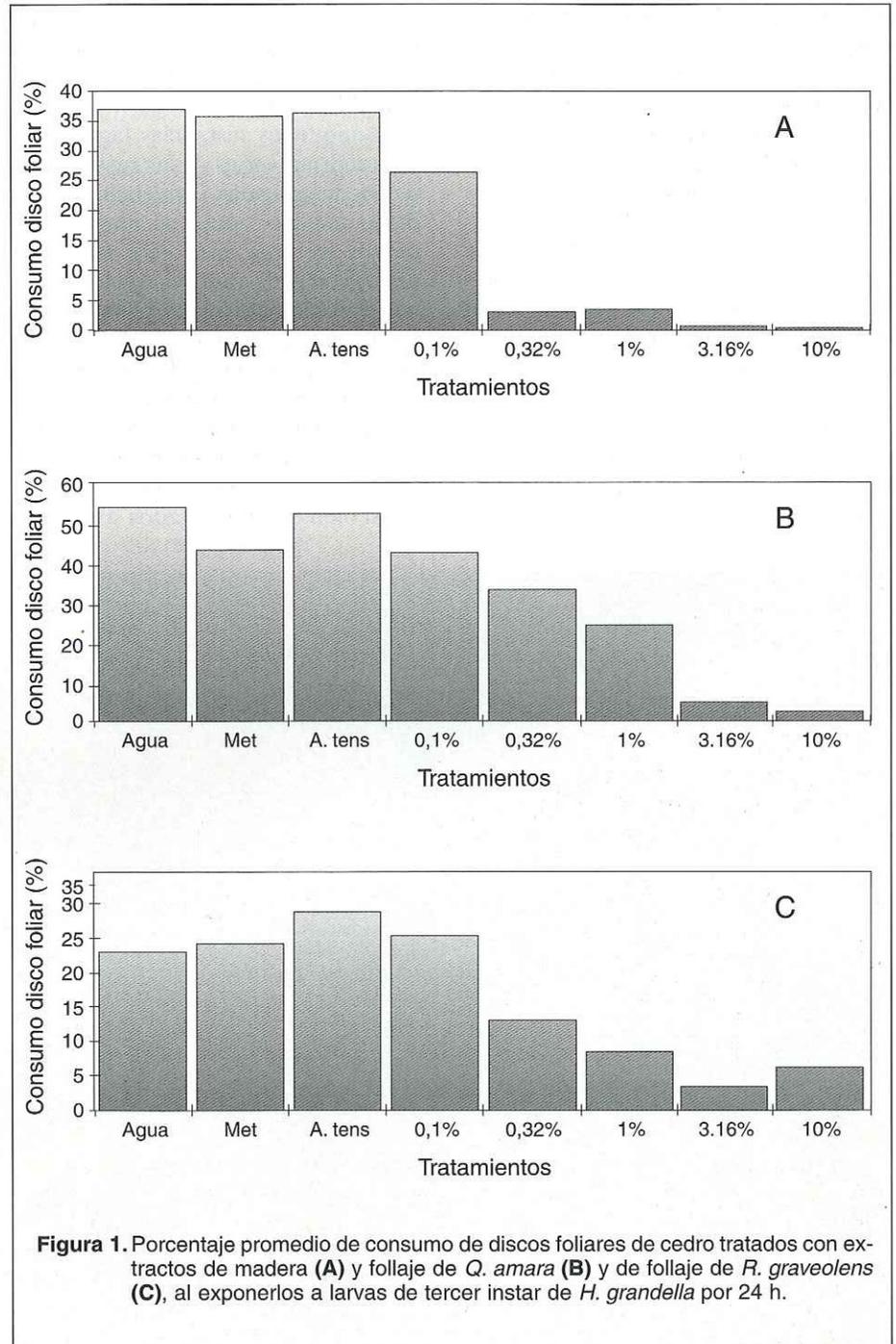
Los tres extractos evaluados dieron fuertes indicios de causar fagodisuasión sobre las larvas de *H. grandella*, desde el tamizado preliminar efectuado, mientras que otros extractos parecieron inhibir el desarrollo (como el Nim 80), o matar a dichas larvas, como el extracto del fruto de tacaco cimarrón (*Sechium pittieri*, Cucurbitaceae) y el Azatín (Mancebo *et al.* 2000a). El Nim 80 y el Azatín son productos comerciales derivados de la semilla del árbol de nim (*A. indica*).

El efecto fagodisuasivo se confirmó mediante los bioanálisis, los cuales aparecen ampliamente discutidos en Mancebo *et al.* (2000b, 2000c). En sín-

tesis, las larvas tratadas con los extractos de madera o follaje de *Q. amara*, así como con el de ruda, consumieron muy poco tejido en los discos de follaje de cedro. Además, al ser colocadas después en la dieta artificial (sin dichas sustancias) la mortalidad posterior fue muy baja, aún a las mayores concentraciones de ambos extractos. Dicho efecto fue más notorio con la madera de hombre grande, para cuyas dos mayores concentraciones los va-

lores de consumo fueron de apenas 0,14 y 0,68%. Sin embargo, se detectó para sus cuatro mayores concentraciones (Fig. 1A), así como para las tres mayores del follaje de hombre grande (Fig. 1B) y las cuatro mayores de la ruda (Fig. 1C).

Se desconoce cuáles principios activos causaron el efecto fagodisuasivo. En *Q. amara* posiblemente lo sean cuasinoides, como la cuasina o la neocuasina (Polonsky 1973). Les-



kinen *et al.* 1984 hallaron que un tipo de cuasina presente de *Q. amara* actúa como fagodisuasivo del coleóptero *Epilachna varivestis* (Coccinellidae). En el follaje también existen cuasinoides, pero en baja concentración (Robins y Rhodes 1984, citados por Mora 1995).

Cuando estos extractos se aplicaron directamente a arbolitos en el invernadero hubo grandes diferencias entre los tratamientos, en el daño provocado por la larva de primer instar ( $F=5,46$ , g.l.= 7, 72,  $p \leq 0,0001$ ). Sobresalió el extracto de madera de *Q. amara* (Fig. 2), pues de los arbolitos tratados con este extracto apenas uno fue atacado y apareció un solo montículo muy pequeño.

En cambio, los ataques fueron altos (50 y 90%) en los arbolitos tratados con los extractos de follaje de hombre grande y de ruda, respectivamente. La ausencia de fagodisuasión con estos dos extractos posiblemente se debió a que en el invernadero hubo mayor riesgo de volatilización de los compuestos activos, y a que las larvas tenían la oportunidad de emigrar hacia partes de la planta no tratadas con las sustancias. Es pertinente

indicar que en el caso de la ruda hubo evidencias de fitotoxicidad en el brote terminal.

Desde el punto de vista del manejo de *H. grandella*, las sustancias fagodisuasivas podrían tener un potencial importante. Esto obedece a que, debido al bajo nivel de tolerancia comercial (umbral económico), apenas una larva por árbol, se debería dar prioridad a un enfoque preventivo para su manejo, donde algunas de dichas sustancias se complementen con otras tácticas, como el mejoramiento genético, las prácticas silviculturales y el control biológico (Newton *et al.* 1993, Speight 1997).

Aunque las sustancias fagodisuasivas tendrían varias de las restricciones de los insecticidas convencionales en dicho manejo, como su alto costo y ciertos factores operativos (la rápida penetración de la larva en los brotes tras emerger del huevo, el lavado por las lluvias, y los métodos de aplicación) (Newton *et al.* 1993), su principal ventaja radica en su carácter preventivo, al actuar rápidamente, antes de que la larva penetre en los brotes y cause fuertes daños económicos.

Si bien estos resultados son promi-

sorios, sobre todo con el renovado interés que existe en desarrollar productos a base de *Q. amara* (Ocampo 1995), debería considerarse la disponibilidad de estas sustancias para los productores de caoba y cedro, su costo económico, y algunos aspectos operativos y de salud pública.

Por ejemplo, dichos extractos quizás podrían utilizarse de manera rústica o semi-rústica, buscando coadyuvantes que aumenten su persistencia en el campo. Aunque ellos podrían aplicarse directamente en la parte aérea del árbol, sobre todo en épocas en que *H. grandella* es abundante, parecería más conveniente incorporarlos al suelo en el momento de la siembra. Además, sería deseable que pudieran reincorporarse al suelo, ya que deberían funcionar durante todo el período crítico de protección, de 5-8 años, dependiendo de la zona geográfica (Cibrián *et al.* 1995), para así obtener una troza de valor comercial.

Hay evidencias preliminares de que el extracto de madera de *Q. amara* puede transportarse de manera sistémica en el cedro (Shannon *et al.* 1997) lo que abriría la posibilidad de formularlos como materiales de li-



**Figura 2.** Daño de la larva de *H. grandella* en el tratamiento testigo, en comparación con un brote de cedro sano, tratados con un extracto de madera de *Q. amara*, en el invernadero (Foto: Francisco Solano).

beración controlada para aumentar su vida media. Esto se ha documentado para algunos insecticidas sistémicos, como el metomil y el carbofuran, los cuales dieron protección completa contra *H. grandella* en árboles de cedro, por varios meses después de aplicados (Allan *et al.* 1973, Wilkins *et al.* 1976). En la actualidad existen métodos semi-rústicos para formular sustancias de liberación controlada (Dr. Richard M. Wilkins 1999, Newcastle University, Inglate-

rra, com. pers.), que podría facilitar su utilización por parte de pequeños productores.

Otra posibilidad, aunque polémica, sería identificar el gen o genes responsables de la producción del principio activo fagodisuasivo en *Q. amara* o la *R. graveolens* y transferirlos a árboles de caoba y cedro mediante ingeniería genética (Shannon *et al.* 1997). Actualmente se dispone de técnicas de cultivos de tejido *in vitro* ya probados en caoba (Orellana 1997), que

permiten la multiplicación de genotipos selectos dentro de programas de mejoramiento genético.

En cuanto a los riesgos para la salud humana, al menos los extractos acuosos de la madera de *Q. amara*, en dosis de hasta 1000 mg/kg administradas oralmente, no causan efectos tóxicos agudos en ratones, esto indica que no existen riesgos si se ingieren. Además, estas sustancias se emplean como un agente digestivo en la medicina tradicional. 

**Agradecimientos.** Esta investigación fue realizada como parte de la tesis de Mag. Sci. del primer autor, en el CATIE, quien recibió apoyo de Fundatrópicos y del IICA. Se agradece al Dr. Bernal Valverde, M.Sc. Phil Shannon e Ing. Carlos Vargas sus valiosos aportes en la fase inicial de la investigación. A Tania Ammour y Róger Villalobos (Proyecto Olafo, CATIE) el apoyo para el desarrollo de la investigación, así como el aporte de las muestras de *Q. amara*. A Juan Carlos Brenes (CIPRONA) y Francisco López (CATIE) la preparación de los extractos vegetales. A Johnny Pérez por su colaboración en los análisis estadísticos. A Douglas Cubillo, Guido Sanabria, Arturo Ramírez, Claudio Arroyo, Alfonso González y Marvin Hernández, su apoyo logístico. A Francisco Solano, la fotografía que acompaña el texto.

Fernando Mancebo  
Fertilizantes Químicos Dominicanos  
(FERQUIDO)  
Santo Domingo, República Dominicana.  
E-mail: fmancebo@yahoo.com.

Luko Hilje  
Unidad de Fitoprotección  
CATIE 7170, Turrialba,  
Costa Rica  
E-mail: lhilje@catie.ac.cr

Gerardo A. Mora  
Centro de Investigación en Productos  
Naturales (CIPRONA)  
Universidad de Costa Rica  
E-mail: gamora@cariari.ucr.ac.cr

Rodolfo Salazar  
Proyecto de Semillas Forestales  
(PROSEFOR)  
CATIE 7170, Turrialba, Costa Rica  
E-mail: rsalazar@catie.ac.cr

### Literatura citada

- ALLAN, G.G.; GARA, R.I.; WILKINS, R.M. 1973. The evaluation of some systemic insecticides for the control of larvae in *Cedrela odorata* L. In Grijpma, P. (ed.). Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep. Pyralidae. Vol. I. IICA Misc. Publ. No. 101. p. 40-48.
- CIBRIAN, D.; MENDEZ, J.T.; CAMPOS, R.; YATES III, H.O.; FLORES, J.E. 1995. Insectos forestales de México. Universidad Autónoma de Chapingo- Comisión Forestal de América del Norte (COFAN). Publ. No. 6. 453 p.
- GRIJPMAN, P. (ed.). 1973. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep., Pyralidae. Vol. I. IICA Misc. Publ. No. 101. 91 p.
- LESKINEN, V.; POLONSKY, J.; BHATNAGAR, S. 1984. Antifeedant activity of quassinoids. *Journal of Chemical Ecology* 10: 1497-1507.
- MANCEBO, F.; HILJE, L.; MORA, G.A.; SALAZAR, R. 2000a. Efecto de extractos vegetales sobre larvas de *Hypsipyla grandella*. *Manejo Integrado de Plagas* (Costa Rica) 55: 12-23.
- MANCEBO, F.; HILJE, L.; MORA, G.A.; SALAZAR, R. 2000b. Antifeedant activity of *Quassia amara* (Simaroubaceae) extracts on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Crop Protection*. (Aceptado).
- MANCEBO, F.; HILJE, L.; MORA, G.A.; SALAZAR, R. 2000c. Biological activity of common rue (*Ruta graveolens*) and "tacaco cimarrón" (*Sechium pittieri*) on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Revista de Biología Tropical* (Costa Rica). (Presentado).
- MORA, G. 1995. Extracción y estudio cromatográfico de extractos de *Quassia amara*. In Ocampo, R. (ed.). Potencial de *Quassia amara* como insecticida natural. Serie Técnica. Informe Técnico No. 267. CATIE-OLAFO. Turrialba, Costa Rica. p. 93-96.
- NEWTON, A.C.; BAKER, P.; RAMNARINE, S.; MESEN, J. F.; LEAKEY, R.R.B. 1993. The mahogany shoot borer: Prospects for control. *Forest Ecology and Management* 57: 301-328.
- OCAMPO, R.A. (ed.). 1995. Potencial de *Quassia amara* como insecticida natural. Serie Técnica. Informe Técnico No. 267. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 185 p.
- ORELLANA, M.A. 1997. Desarrollo de un sistema de cultivo *in vitro* para los explantes nodales de caoba (*Swietenia macrophylla*, King). Tesis Mag. Sci., CATIE, Turrialba, Costa Rica. 94 p.
- POLONSKY, J. 1973. Quassinoid bitter principles. *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe* 30: 101-150.
- SAS INSTITUTE. 1985. SAS User Guide: Statistics, Version 5 ed. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina. 956 p.
- SCHMUTTERER, H. 1982. Ten years of neem research in the Federal Republic of Germany. In Schmutterer, H., Ascher, K.R.S. and Rembold, H. (eds.). Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss). (1.1980. Rottachegern, Germany). [Proceedings] Eschborn, Germany. p. 21-31.
- SHANNON, P.J.; VARGAS, C.; CUBILLO, D.; HILJE, L.; WA MASABO, M. A.; SANABRIA, G. 1997. Actividad biológica de hombre grande (*Quassia amara*) sobre *Hypsipyla grandella* (Lep.: Pyralidae). (Inédito).
- SPEIGHT, M.R. 1997. Forest pests in the tropics: Current status and future threats. In Watt, A. D., Stork, N.E., and Hunter, M.D. (eds.). Forest and insects. Chapman & Hall, London. p. 207-227.
- WHITMORE, J. L. (ed.). 1976a. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep., Pyralidae. Vol. II. IICA Misc. Publ. No. 101. 139 p.
- WILKINS, R.M.; ALLAN, G.G.; GARA, R.I. 1976. Protection of spanish cedar with controlled release insecticides. In Whitmore, J.L. (ed.). Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller). Lep. Pyralidae. Vol. III. CATIE Misc. Publ. No. 1. p. 63-70.