# PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION OF *Melia azedarach* L. FRUIT AND LEAF FOR USE AS BOTANICAL INSECTICIDE

Italo Chiffelle G.<sup>1</sup>, Amanda Huerta F.<sup>2</sup>\* y Diego Lizana R.<sup>2</sup>

#### **RESUMEN**

Se estudiaron las características físicas, químicas y las propiedades insecticidas del fruto y hojas de melia (Melia azedarach L.) (Meliaceae), árbol introducido con fines ornamentales en Chile. Se evaluaron las propiedades físicas y químicas de dos estados de madurez del fruto, verde y maduro, y de las hojas, juveniles y maduras. Las propiedades insecticidas se evaluaron mediante bioensayos de laboratorio sobre Drosophila melanogaster Meigen (Diptera: Drosophilidae), como insecto modelo. El diámetro del fruto de M. azedarach se situó en el límite inferior con referencia a otros estudios. La harina obtenida del fruto verde tuvo un peso seco promedio inferior al maduro. Las hojas tuvieron pesos secos promedio similares, tanto en el estado juvenil como en el maduro. Los frutos verdes tuvieron un contenido de humedad de 50%, similar a las hojas juveniles (60%) y maduras (57%), pero mayor que los frutos maduros (44%). El análisis químico de los estados de madurez del fruto determinó un aumento leve en el contenido de fibra cruda según aumentaba la madurez. En las hojas hubo una disminución cercana a 60% en la cantidad de lípidos cuando maduran. Además, un análisis de polifenoles, por HPLC-DAD (Cromatografía Líquida de Alta Resolución con Detector de Arreglo de Diodos) identificó 14 compuestos como causantes del efecto insecticida del fruto de M. azedarach, de los cuales tres corresponderían a flavonoides: una catequina y dos kaempferoles. Finalmente, los extractos acuosos de hojas y frutos de M. azedarach fueron eficaces como insecticidas sobre D. melanogaster, alcanzando mortalidades de hasta 90% con hojas juveniles (125  $000 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y 73,3% con frutos verdes (10 700 mg kg<sup>-1</sup>).

Palabras clave: árbol del paraíso, Meliaceae, compuestos fenólicos.

Parte del trabajo presentado al 57º Congreso Agronómico de Chile y XXXIV Congreso Colombiano de Entomología. <sup>1</sup> Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Av. Santa Rosa 11315, La Pintana, Casilla 1004, Santiago, Chile.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales, Av. Santa Rosa 11315, La Pintana, Casilla 9206, Santiago, Chile. E-mail: <a href="mailto:ahuerta@uchile.cl">ahuerta@uchile.cl</a> \* Autor para correspondencia.

# INTRODUCCIÓN

Los insecticidas sintéticos son herramientas importantes en el control de plagas, aunque han tenido un uso excesivo con consecuencias negativas, como toxicidad hacia agricultores, consumidores y animales silvestres, interrupción del control natural y polinización, contaminación de aguas, y evolución de resistencia de las plagas a estos productos (Perry *et al.*, 1998). Los insecticidas botánicos se han usado en agricultura al menos durante dos mil años en Asia y Medio Oriente (Thacker, 2002). El interés por compuestos botánicos nuevos para el control de plagas se basa en su bioeficacia, biodegradabilidad y su actividad fisiológica (Rodríguez, 1998; Isman, 1999).

El neem, *Azadirachta indica* A. Juss., y el neem chino, *Melia azedarach* L. (Meliaceae), son árboles nativos de Asia y Australia meridional, con propiedades insecticidas importantes. Ambas especies se han usado principalmente con fines ornamentales y se han naturalizado en países tropicales y subtropicales (Villalobos, 1996). En Chile, melia es cultivada ampliamente con propósitos ornamentales y tiene una buena adaptación (Hoffmann, 1995).

La actividad insecticida de *M. azedarach* se debe a triterpenoides biológicamente activos con efecto antialimentario, es decir, inhiben la alimentación de insectos fitófagos produciendo la muerte y malformaciones de las generaciones posteriores (Vergara *et al.*, 1997; Carpinella *et al.*, 2003). Se han evaluado extractos de hojas y frutos de *M. azedarach* sobre diversas plagas, con resultados promisorios (Padrón *et al.*, 2003; Mazzonetto y Vendramim, 2003; Pérez-Pacheco *et al.*, 2004).

La bioactividad de azadiractina (un tetranotriterpenoide) a partir de *A. indica* ha permitido investigar insecticidas naturales en la mayoría de los géneros cercanos, incluyendo melia (González-Gómez *et al.*, 2006). Entre los triterpenoides en las semillas de *M. azedarach*, la meliacarpina, similar a la azadiractina, tiene también actividad en la regulación del crecimiento de insectos (Schmutterer, 2002).

La razón principal del bajo desarrollo de *M. azedarach* como insecticida comercial en comparación a *A. indica* radica en que los frutos de la primera contienen meliatoxina, un triterpenoide tóxico para mamíferos (Schmutterer, 2002). Sin embargo, la composición química de *M. azedarach* varía notablemente desde su estado silvestre al cultivado, y los frutos desarrollados en Argentina no tienen meliatoxina pero sí otros triterpenoides, principalmente meliartenina, un fuerte anti-alimentario de insectos que podría ser útil para el manejo de plagas y enfermedades (Carpinella *et al.*, 2003; 2005).

Dada esta variabilidad en la composición química de *M. azedarach* según el ambiente y el manejo, esta investigación se situó en Chile, como primera aproximación en la zona central, para estudiar las características físicas y químicas de sus hojas y frutos en distintos estados de madurez, y probar la eficacia insecticida de extractos provenientes de dichos componentes de *M. azedarach* sobre *D. melanogaster*, como insecto modelo.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

## Material biológico

Las hojas y frutos de *M. azedarach* se muestrearon al azar desde la copa de 15 árboles de maduración heterogénea, ubicados en el Campus Antumapu (33°34' S, 70°37' O) de la Universidad de Chile, Santiago, Chile. Se colectaron 5 kg de frutos el día 12 de abril de 2006. Estos frutos se separaron según su color, como criterio de madurez: juvenil (verde) y maduro (amarillo). Se colectaron en total 3 kg de hojas maduras (15 de junio de 2006) y juveniles (3 octubre de 2006). Para la diferenciación del estado de madurez de las hojas se usaron dos criterios, color y consistencia: juvenil (verde claro y blanda) y madura (verde oscuro y coriácea). El material fresco de hojas se mantuvo refrigerado a 4 °C hasta su análisis.

Se utilizaron adultos de *D. melanogaster*, como un insecto modelo, alimentados en un medio de cría compuesto por una mezcla ácida con agua (1 L), agar-agar (16 g), sémola fina (60 g), levadura seca (10 g), fungicida metil parabeno (Nipagin) (12 mL), sacarosa (43 g), nitrato de sodio (4,2 g), fosfato (1,2 g) y cloruro de potasio (0,7 g), y sulfato de magnesio (0,7 g) (Moreno *et al.*, 2000).

## Medición física de frutos

Se midió el peso (balanza analítica, 01 mg) y diámetro (pie de metro, mm) de los frutos en los dos estados de madurez (n = 100) y el número de frutos por kilogramo, calculándose el promedio con su desviación estándar. Se determinó el color de las muestras de frutos claramente diferenciadas y rotuladas, utilizando un colorímetro (Minolta CR 300, Nueva York, EE.UU.) bajo el método CIELab (Hunter Labs, 1996), a través de una medición triestímulo identificando las coordenadas L\*: correspondiente a la claridad (desde el negro al blanco); a\*: espectro desde el verde al rojo; y b\*: espectro que oscila entre amarillo y azul (Ngo *et al.*, 2007).

### Análisis químico de hojas y frutos

Las muestras (1 kg cada una) de frutos (verdes y maduros) y hojas (juveniles y maduras) se secaron en una estufa de aire forzado a 37 °C durante 65 h. Los frutos y las hojas en sus distintos estados de desarrollo, por separado, se molieron en un molino mecánico con un tamiz de graduación N° 60, mesh (0,25 mm). Con las

harinas generadas se determinó una serie de características químicas de los estados de madurez estudiados: lípidos, por extracción con Soxhlet; fibra cruda, mediante hidrólisis ácida y básica; cenizas, por incineración en mufla a 550 °C; proteínas, por método de micro-Kjeldahl; el extracto no nitrogenado se obtuvo por diferencia de los análisis anteriores, y la humedad por secado con estufa de aire forzado a 105 °C hasta obtener un peso constante (AOAC, 1984). Todos los análisis se hicieron por triplicado, obteniéndose los promedios con sus respectivas desviaciones estándares.

## Análisis de polifenoles de frutos

Se hizo un análisis de polifenoles de los frutos para obtener los taninos totales (Bate-Smith, 1981) y un análisis pormenorizado de los compuestos polifenólicos de bajo peso molecular para los dos estados de madurez, mediante técnicas de individualización por cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a un detector de fotodiodos alineados (HPLC-DAD) (Peña *et al.*, 2000). Para esto se utilizó un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (Merck de Hitachi D-7000, Darmstadt, Alemania), que constó de una bomba (Intelligent Pump L-6200, Darmstadt, Alemania), un inyector automático (Autosampler L-7200, Darmstadt, Alemania), un detector de arreglo de fotodiodos alineados L-7455 (Darmstadt, Alemania), y una columna Waters Nova-pak C<sub>18</sub> de 3,9 mm de diámetro interno por 300 mm de longitud para fenoles de bajo peso molecular.

Los compuestos fenólicos se identificaron comparando su espectro de absorción y tiempo de retención con su respectivo estándar. La cuantificación se hizo utilizando los patrones marca Sigma S.A.: catequina, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, quercetina, epicatequina, kaempferol, ácido gálico, y (-) epicatequina, y las respectivas rectas de calibración (absorbancia de 280 nm).

## Evaluación de la eficacia insecticida de extractos de M. azedarach

Se prepararon extractos acuosos con las harinas de las hojas y frutos de *M. azedarach* en dos estados de madurez en tres concentraciones, que se determinaron de acuerdo a la solubilidad de la harina en cada solvente.

Estos extractos de *M. azedarach* se evaluaron mediante bioensayos de laboratorio sobre adultos de *D. melanogaster* a distintas concentraciones, usando como variables el estado de madurez del fruto y de las hojas y la concentración del producto. La mezcla ácida para alimentar a los insectos se puso en un frasco de vidrio (300 mL) con el extracto elaborado en base a *M. azedarach*, según la concentración definida para cada tratamiento. En los frascos se introdujeron 10 moscas de 5 días después de la emergencia, y se observaron permanentemente durante 22 días, contando las moscas muertas y vivas cada 2 días, aproximadamente.

Los análisis se hicieron por separado para cada estado de madurez del fruto y de las hojas. Se utilizó un diseño completamente al azar con tres repeticiones. Se usaron tres concentraciones del extracto de las hojas (25 000, 75 000 y 125 000 mg kg<sup>-1</sup>) y de los frutos (3 200, 7 500 y 10 700 mg kg<sup>-1</sup>), más los respectivos controles (sin extractos). Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza usando el paquete estadístico SAS versión 6.11 (SAS Institute, 1998) y se compararon las medias con pruebas de Tukey ( $p \le 0.05$ ).

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

# Caracterización física del fruto y hoja

Los frutos presentaron un peso y diámetro promedio de  $5,20 \pm 0,19$  g y  $14,0 \pm 0,5$  mm, y  $4,06 \pm 0,10$  g y  $12,8 \pm 0,5$  mm para el estado verde y maduro, respectivamente. Los diámetros de los frutos registrados en este estudio son inferiores al promedio señalado por Hoffmann (1995) de 15 mm (**Cuadro 1**).

# Cuadro 1. Peso y diámetro (promedio ± SD) y color del fruto de *Melia azedarach*, según estado de madurez.

Table 1. Weight and diameter (average  $\pm$  SD) and color of *Melia azedarach* fruit according to mature stage.

	Estado de madurez del fruto		
Parámetro	Verde	Maduro	
Peso, g	$5,20 \pm 0,19$	$4,06 \pm 0,10$	
Diámetro, mm	$14,0 \pm 0,5$	$12,8 \pm 0,5$	
Color del fruto			
L*	50,9	60,3	
a*	-20,7	-17,6	
b*	34,3	47,7	

L\*: claridad; a\*: espectro desde verde a rojo; b\*: espectro entre amarillo y azul; SD: desviación estándar.

El fruto maduro presentó mayor claridad ( $L^*$ ) y una tonalidad más amarilla ( $b^*$ ) que el fruto verde, el cual mostró un color más verdoso ( $a^*$ ) (**Cuadro 1**).

El número de frutos por kilogramo fue variable, dependiendo de su tamaño, estado de madurez y contenido de humedad. En promedio, el número de frutos fue de  $576 \pm 53$  unidades kg<sup>-1</sup> para el estado verde y  $738 \pm 72$  unidades kg<sup>-1</sup> para el estado maduro.

A partir de las muestras (1 kg) de frutos y hojas en sus distintos estados de madurez se obtuvieron harinas con pesos secos promedios que se indican en el **Cuadro 2**. La harina obtenida del fruto verde tuvo un peso seco promedio inferior al maduro, debido a su mayor contenido de humedad. El fruto verde perdió casi 60% de agua, mientras que el maduro sólo 44%. Las hojas tuvieron pesos secos similares, tanto en el estado juvenil como en el maduro, 422 y 496 g, respectivamente, dado que sus humedades fueron cercanas en ambos estados de desarrollo (**Cuadro 2**).

Cuadro 2. Humedad inicial y peso seco (promedio  $\pm$  SD) después de la molienda del fruto y hoja de *Melia azedarach*, según estado de madurez.

Table 2. Initial humidity and dry weight (average  $\pm$  SD) after grinding of *Melia azedarach* fruit and leaf, according to mature stage.

	Fruto		Ноја	
Parámetro	Verde	Maduro	Juvenil	Madura
Humedad inicial, %	$59,6 \pm 1,25$	$44,1 \pm 1,14$	$60,9 \pm 0,34$	$57,0 \pm 1,32$
Peso seco promedio, g	$381 \pm 9$	$522 \pm 13$	$422 \pm 6$	$496 \pm 12$

SD: desviación estándar.

### Análisis químico del fruto y hoja

La proporción de fibra cruda detectada fue levemente superior (3%) en el estado maduro del fruto, lo que se debería al incremento de este elemento con la maduración. No hubo diferencias significativas en los contenidos de ceniza, lípidos y proteína de los distintos estados de madurez de los frutos (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Análisis químico (promedio ± SD) del fruto y hoja de *Melia azedarach*, según estado de madurez.

Table 3. Chemistry analysis (average  $\pm$  SD) of *Melia azedarach* fruit and leaf, according to mature stage.

	Fruto		Ноја	
Análisis	Verde	Maduro	Juvenil	Madura
Cenizas	$5,12 \pm 0,10$	$4,40 \pm 0,06$	$13,14 \pm 0,02$	$11,92 \pm 0,47$
Proteínas	$6,87 \pm 0,15$	$5,98 \pm 0,56$	$6,60 \pm 0,32$	$6,10 \pm 0,28$
Lípidos	$5,23 \pm 0,17$	$5,17 \pm 0,29$	$2,80 \pm 0,08$	$1,08 \pm 0,10$
Fibra Cruda	$35,70 \pm 0,13$	$38,68 \pm 0,93$	$10,94 \pm 0,33$	$10,33 \pm 0,39$
ENN	$47,08 \pm 0,55$	$45,77 \pm 1,84$	$66,52 \pm 0,75$	$70,57 \pm 1,24$

SD: desviación estándar; ENN: extracto no nitrogenado.

En las hojas, los contenidos de ceniza, proteína y fibra cruda no presentaron diferencias en los estados de desarrollo. Hubo una disminución en el contenido de lípidos cercana al 60% desde el estado juvenil al maduro (**Cuadro 3**).

# Análisis de polifenoles de frutos

La mayor proporción de taninos totales se concentró en el estado verde, con 3,9 g L<sup>-1</sup>, mientras que en el estado maduro sólo fue 2,56 g L<sup>-1</sup>. En el análisis de compuestos fenólicos de bajo peso molecular se obtuvieron 14 sustancias, identificándose sólo tres. El resto no correspondió a ninguno de los patrones probados. Los principales compuestos encontrados con sus respectivos tiempos de retención se presentan en el **Cuadro 4**.

Cuadro 4. Compuestos fenólicos de bajo peso molecular en frutos de Melia azedarach.

Table 4. Low molecular weight phenolic compounds in Melia azedarach fruits.

Cima Nº	Compuesto	Tiempo de retención
		min
1	Desconocido	2,75
2	Desconocido	3,72
3	Desconocido	18,72
4	Catequina	23,00
5	Desconocido	30,48
6	Desconocido	42,27
7	Desconocido	48,43
8	Kaempferol	57,36
9	Kaempferol	62,33
10	Desconocido	2,81
11	Desconocido	3,87
12	Desconocido	19,59
13	Desconocido	31,25
14	Desconocido	49,23

En las cromatografías obtenidas se observa el perfil de los compuestos constituyentes para el fruto verde y maduro de *M. azedarach*. (**Figura 1**). Entre los compuestos con mayor participación en el fruto sólo se pudieron reconocer los correspondientes a las cimas (puntos máximos de absorbancia a 280 nm) 4, 8 y 9. El primero podría ser una catequina y los demás kaempferoles (Mabry *et al.*, 1970). Los espectros de las cimas más importantes se presentan en la **Figura 2**.

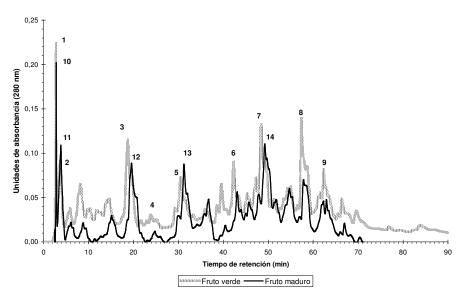
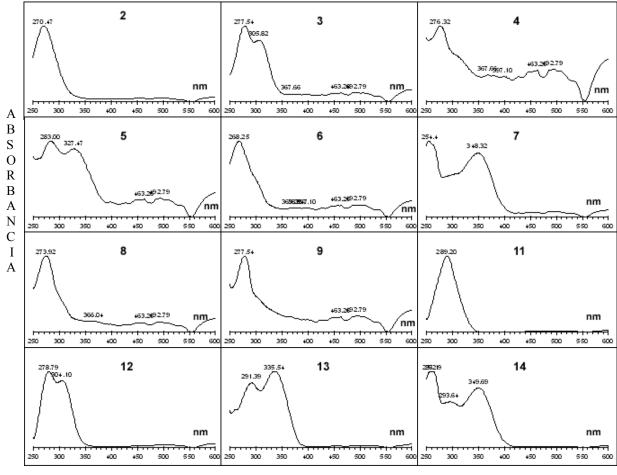


Figura 1. Cromatografías líquidas de alto rendimiento (HPLC) de la harina obtenida del fruto verde y maduro de *Melia azedarach*. 1-3, 5-7, 10-14: desconocidos; 4: catequina; 8-9: kaempferol.

Figure 1. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) of flour obtained of green and mature fruit of *Melia azedarach.* 1-3, 5-7, 10-14: unknown; 4: catechin; 8-9: kaempferol.

En las cromatografías obtenidas (**Figura 1**) se observan compuestos que tienen tiempo de retención, forma y espectros de absorción similares en ambos estados de madurez del fruto, lo que podría indicar que la mayoría de las moléculas están presentes en los dos estados de madurez. Eso se puede observar al comparar la cima 2 del estado verde con la molécula encontrada en la cima 11 del estado maduro. La misma situación ocurre entre las cimas 1 y 10, 2 y 11, 3 y 12, 5 y 13, y 7 y 14.

Con los resultados obtenidos sólo se identificaron en forma preliminar dos compuestos fenólicos, catequina y kaempferol, pertenecientes a los grupos de los flavanos 3-oles y a los flavonoles, respectivamente. Ambos constituyen parte de los compuestos llamados flavonoides, grupo al cual Izco (1998) adjudica parte de los efectos insecticidas de los vegetales. Estos compuestos tienen un amplio rango de efectos biológicos, incluyendo efectos antioxidantes (defensa contra el estrés oxidativo), además de efectos antimicrobianos, antinflamatorios y acción vasodilatador (Urquiaga y Leighton, 2000; Kahkonen *et al.*, 2001). Los compuestos identificados en este estudio son asociados principalmente al sabor y cualidades antioxidantes y pro-oxidantes, como lo menciona Pérez (2003) en un estudio de flavonoides desarrollado para evaluar las cualidades antioxidantes y pro-oxidantes de dichos compuestos. Se sugiere continuar con esta línea de investigación, la cual permitiría conocer los compuestos responsables de las cualidades insecticidas de los frutos de *M. azedarach* y contribuir con ello a la obtención de nuevos insecticidas botánicos.



Longitud de onda (nm)

Figura 2. Espectros de los compuestos fenólicos del fruto de *Melia azedarach*. 2-3, 5-7, 11-14: desconocidos; 4: catequina; 8-9: kaempherol; UR: unidades relativas.

Figure 2. Spectra of phenolic compounds of *Melia azedarach* fruit. 2-3, 5-7, 11-14: unknown; 4: catechin; 8-9: kaempferol; UR: relative units.

## Evaluación de la efectividad de extractos de M. azedarach

Los extractos acuosos de frutos y hojas de M. azedarach de ambos estados de madurez afectaron la mortalidad de los adultos de D. melanogaster, siendo significativas a  $p \le 0.05$  (Cuadros 5 y 6).

Cuadro 5. Mortalidad promedio de adultos de *Drosophila melanogaster* por efecto de extractos acuosos de frutos de *Melia azedarach* en la dieta.

Table 5. Average mortality of *Drosophila melanogaster* adults by effect of aqueous extracts of *Melia azedarach* fruits in the diet.

Estados de	Concentraciones (mg kg <sup>-1</sup> )* 3 200 7 500 10 700		
madurez			
	Porcentaje ± SD		
Verde	$43,3 \pm 1,15c$	$60.0 \pm 1.00$ b	$73,3 \pm 0,58a$
Maduro	$16,7 \pm 1,15c$	$36,7 \pm 1,15b$	$53,3 \pm 0,58a$

<sup>\*</sup>Las letras distintas en forma horizontal indican diferencias significativas entre las concentraciones según la prueba de Tukey ( $p \le 0.05$ ).

SD: desviación estándar

Cuadro 6. Mortalidad promedio de adultos de *Drosophila melanogaster* por efecto de extractos acuosos de hojas de *Melia azedarach* en la dieta.

Table 6. Average mortality of *Drosophila melanogaster* adults by effect of aqueous extracts of *Melia azedarach* leaves in the diet.

Estados de	Concentraciones (mg kg <sup>-1</sup> )*		
madurez	25000	125000	
_	Porcentaje ± SD		
Juvenil	$70.0 \pm 2.30$ b	$70.0 \pm 2.30$ b	$90.0 \pm 1.48a$
Madura	$60,0 \pm 1,73c$	$66,7 \pm 2,35$ b	$76,7 \pm 1,20a$

<sup>\*</sup>Letras distintas en filas indican diferencias significativas entre las concentraciones según Tukey (p ≤ 0,05). SD: desviación estándar

La mortalidad de *D. melanogaster* alcanzada con los extractos de los frutos verdes fue superior a los obtenidos con frutos maduros. Los resultados más efectivos se obtuvieron en los extractos de frutos verdes a 10 700 mg kg<sup>-1</sup>, con cerca de 74% de mortalidad, luego el extracto con la concentración de 7 500 mg kg<sup>-1</sup> (60% de mortalidad). Los tratamientos de los extractos de concentración menor (3 200 mg kg<sup>-1</sup>) de frutos maduros causaron casi un 17% de mortalidad (**Cuadro 5**).

La mortalidad de *D. melanogaster* por efecto de los extractos de las hojas juveniles fue superior a los obtenidos con las hojas maduras. Los resultados más efectivos se obtuvieron en los extractos de hojas juveniles a 125000 mg kg<sup>-1</sup>, con 90% de mortalidad, seguido de los extractos con las concentraciones de 75 000 y 25 000 mg kg<sup>-1</sup> (70% de mortalidad). Los tratamientos de los extractos de hojas maduras con la concentración menor (25000 mg kg<sup>-1</sup>) causaron el 60% de mortalidad (**Cuadro 6**).

En los **Cuadros 5** y **6** se distingue un efecto de las concentraciones de los extractos sobre la mortalidad de los insectos, esto es, a mayor concentración del producto hubo mortalidad mayor, independiente del estado de madurez del fruto y de las hojas.

El comportamiento de *D. melanogaster* durante los bioensayos varió según el estado de madurez evaluado y la concentración del extracto. Como el producto estaba mezclado con el alimento, las moscas tendían inicialmente a bajar hacia el medio pero se alejaban de él con el transcurso de los días. Este alejamiento de las moscas del medio de crianza fue más notorio en los tratamientos con las dosis mayores del extracto, donde las moscas bajaban a comer los primeros 3 días y después permanecían en la parte superior del frasco. En general, en los bioensayos no hubo descendencia viable de *D. melanogaster*. Algunos individuos tratados produjeron insectos incapaces de desarrollarse o con malformaciones en las alas.

La acción repelente de los extractos y las malformaciones de algunos individuos también las observaron Rodríguez y Vendramim (1998), comprobando que la mayoría de las substancias a base de *M. azedarach* inhibe la acción de las oxidasas en el intestino medio; el insecto juvenil se convierte en pupa o adulto anormal, o bien muere, por deficiencia nutricional o interferencia en los procesos fisiológicos. Estos resultados sobre la efectividad insecticida de extractos de *M. azedarach* concuerdan con los obtenidos por otros autores, como Valladares et al. (1997) y Defagó *et al.* (2006), quienes evaluaron tres concentraciones (2, 5 y 10%) etanólicas de *M. azedarach* en Argentina, logrando mortalidades cercanas al 100% sobre Xanthogaleruca luteola (Coleoptera: Chrysomelidae).

Vergara *et al.* (1997) indican que los efectos combinados de los compuestos en el fruto son más poderosos que en forma individual. Esto permite inferir que sería mejor un extracto a base del fruto completo, en vez de aislar el principio activo, dado que al existir un conjunto de compuestos no sólo aumentaría la mortalidad de los insectos, sino que disminuiría la probabilidad que éstos desarrollen resistencia a una mezcla de ingredientes activos. Islan (1997) señala que para los insectos es más dificil reaccionar a un complejo de sustancias que a una única molécula.

## **CONCLUSIONES**

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir que el diámetro del fruto de *M. azedarach* fue inferior al promedio de la literatura. El análisis químico del fruto determinó un aumento leve en el contenido de fibra cruda según se incrementó su grado de madurez. En las hojas hubo una disminución en la cantidad de lípidos cercana a un 60% desde el estado juvenil al maduro. En el análisis de polifenoles de los frutos de *M. azedarach* se encontraron preliminarmente 14 compuestos, identificándose tres posibles flavonoides, una catequina y dos kaempferoles. Los extractos de hojas y frutos de *M. azedarach* fueron eficaces como insecticidas contra *D. melanogaster*, alcanzando mortalidades de hasta 90% con hojas juveniles (125 000 mg kg<sup>-1</sup>) y 73,3% con frutos verdes (10 700 mg kg<sup>-1</sup>). Estos resultados son promisorios

considerando que el material vegetal provino de árboles ornamentales que no fueron intervenidos con manejo silvícola para el aprovechamiento de sus compuestos insecticidas.

### RECONOCIMIENTOS

Investigación financiada por Proyecto Incentivo para FONDECYT-Iniciación DI 2006 (ESP-INI 06/01) del Departamento de Investigación de la Universidad de Chile.

### **ABSTRACT**

Caracterización física y química del fruto y hoja de Melia azedarach L. para uso como insecticida botánico. The physical and chemical characteristics and insecticide properties of melia (Melia azedarach L. (Meliaceae) fruit and leaf were studied in trees introduced with ornamentals aims in Chile. The physical and chemical properties of two stages of fruit maturity, green and mature, and leaves maturity, mature and youthful, were evaluated. The insecticide properties were evaluated by laboratory bioassays onto Drosophila melanogaster Meigen (Diptera: Drosophilidae), as insect model. The diameter of M. azedarach fruit was inferior to other studies. The flour obtained of green fruit had an inferior average dry weight to mature fruit. The average leaf dry weights were similar. The green fruits had 59% initial humidity, similar to youthful (60%) and mature (57%) leaves, but greater than the mature fruits (44%). The chemical analysis of the fruit maturity stages determined a slight increase in crude fiber content according to increasing mature stage. In leaves there was a diminution in the lipid content near to 60% at maturing. In addition, an analysis of polyphenols was made by HPLC-DAD (High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector), identifying 14 compounds causing insecticide effect of M. azedarach fruit, of which three would correspond to flavonoids: one catechin and two kaempferol. Finally, the fruit and leaf extracts of M. azedarach were efficient as insecticide on D. melanogaster, reaching until 90% mortality (125 000 mg kg<sup>-1</sup>) with youthful leaves and 73.3% (10 700 mg kg<sup>-1</sup>) with green fruit.

**Key word**: Chinaberry tree, Meliaceae, phenolic compound.

#### LITERATURA CITADA

AOAC. 1984. Official methods on analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14<sup>th</sup> ed. 1.141 p. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Washington, D.C., USA.

Bate-Smith, E. 1981. Astringent tannins of the leaves of Germain species. Phytochem. 20:211-216.

Carpinella, C., T. Defago, G. Valladares, and 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.

Carpinella, M.C., C.G. Ferrayoli, and S.M. Palacios. 2005. Antifungal synergistic effect of scopoletin, a hydroxycoumarin isolated from *Melia azedarach* L. fruits. J. Agric. Food Chem. 53:2922-2927.

Defagó, M., G. Valladares, E. Banchio, C. Carpinella, and S. Palacios. 2006. Insecticide and antifeedant activity of different plant parts of *Melia azedarach* on *Xanthogaleruca luteola*. Fitoterapia 77:500-505.

González-Gómez, R., G. Otero-Colina, J.A. Villanueva-Jiménez, J.A Pérez-Amaro, y R.M. Soto-Hernández. 2006. Toxicidad y repelencia de *Azadirachta indica* contra *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). Agrociencia 40:741-751.

Hoffmann, A. 1995. Los árboles urbanos de Chile. Fundación Claudio Gay, Santiago, Chile.

Hunter Labs. 1996. Hunter lab color scale. Insight on color 8(9). Hunter Associates Laboratories, Reston, Virginia, USA.

Islan, B. 1997. Neem and other botanical insecticides: barriers to commercialization. Phytoparasitica 25:339-344.

Isman, M.B. 1999. Pesticides based on plant essential oils. Pestic. Outlook 10:68-72.

Izco, J. 1998. Caracteres taxonómicos: Composición química. Botánica. p. 155-172. McGraw-Hill-Interamericana, Madrid, España.

Kahkonen, M., A. Hopia, and M. Heinonen. 2001. Berry phenolics and their antioxidant activity. J. Agric. Food Chem. 49:4076-4082.

Mabry, T.J., K.R. Markham, and M.B. Thomas. 1970. The systematic identification of flavonoids. 354 p. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

Mazzonetto, F., and J. Vendramim. 2003. Effect of powders from vegetal species on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) in stored bean. Neotrop. Entomol. 32:145-149.

Moreno, M., S. González, I. Acevedo, G. Morales, M. Betancour, J. López, y C. Peláez. 2000. *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae): modelo biológico para la estandarización de extractos naturales con actividad insecticida. Rev. Colombiana Entomol. 26(1-2):41-47.

Ngo, T., R.E. Wrolstad, and Y. Zhao. 2007. Color quality of Oregon strawberries- Impact of genotype, composition, and processing. J. Food Sci. 72(1):C025-C032.

Padrón, B., A. Oranday, C. Rivas, y M. Verde. 2003. Identificación de compuestos de *Melia azedarach*, *Syzgium aromaticum* y *Cinnamomum zeylanicum* con efecto inhibitorio sobre bacterias y hongos. Ciencia UANL 6(3):333-338.

Peña, A., T. Hernández, C. García-Vallejo, I. Estrella, and J.A. Suárez. 2000. A survey of phenolic compounds in Spanish wines from different geographical origins. Eur. Food Res. Technol. 210:445-448.

Pérez, G. 2003. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. Rev. Cubana Invest. Biomed. 22(1):48-57.

Pérez-Pacheco, R., C. Rodríguez, J. Lara-Reyna, R. Montes, y G. Ramírez. 2004. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus* (Say.) (Diptera: Culicidae). Acta Zool. Mex. Nueva Serie 20(1):141-152.

Perry, A.S., I. Yamamoto, I. Ishaaya, and R.Y. Perry. 1998. Insecticides in agriculture and environment: retrospects and prospects. 261 p. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

Rodríguez, H. 1998. Determinación de toxicidad y bioactividad de cuatro insecticidas orgánicos recomendados para el control de plagas en cultivos hortícolas. Rev. Latinoamericana de Agricultura y Nutrición (RELAN) 1(3):32-41.

Rodríguez, H., y J. Vendramim. 1998. Uso de índices nutricionales para medir el efecto insectistático de extractos de meliáceas sobre *Spodoptera frugiperda*. Rev. Manejo Integrado de Plagas (Honduras) 48:11-18.

SAS Institute. 1998. SAS. Language guide for personal computers release 6.03 Edition. 1028 p. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA.

Schmutterer, H. (ed.) 2002. The neem tree. 892 p. Neem Found, Mumbai, India.

Thacker, J.R.M. 2002. An introduction to arthropod pest control. 343 p. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Urquiaga, I., and F. Leighton. 2000. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. Biol. Res. 33:55-64.

Valladares, G., M.T. Defagó, S.M. Palacios, and M.C. Carpinella. 1997. Laboratory evaluation of *Melia azedarach* (Meliaceae) extracts against the elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Econ. Entomol. 90:747-750.

Vergara, R., C. Escobar, y P. Galeano. 1997. Potencial insecticida de extractos de *Melia azedarach* L. (Meliaceae). Actividad biológica y efectos. Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín 50(2):186.

Villalobos, P. 1996. Plaguicidas naturales de origen vegetal: Estado actual de la investigación. 35 p. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid, España.