

ACTIVIDAD INSECTICIDA POTENCIAL DE SESQUITERPENOS PRESENTES EN *Dalea coerulea* (L.f.) Schinz. et Thellung

Potential insecticidal activity of sesquiterpenes present in *Dalea coerulea* (L.f.) Schinz. et Thellung

Alba Isabel Arango B.¹, Jaime González G.²
Jesús Emilio Luque Z.³ y Bárbara Moreno⁴

RESUMEN

El extracto en éter de petróleo de la parte aérea de *Dalea coerulea*, especie vegetal nativa de Colombia usada en el control de insectos, se sometió a separaciones cromatográficas guiadas por bioensayo general de toxicidad con *Artemia salina*. Las fracciones activas se purificaron por cromatografía repetitiva y los productos se controlaron con bioensayos de toxicidad general y específicos. Una fracción denominada F2, constituida por mono y sesquiterpenos, mostró acción repelente e insecticida sobre *Xenopsylla* sp. y *Macrosiphum rosae*. De la otra fracción llamada F7, se separaron 4 flavanonas y una mezcla compleja de carácter terpenoide. Las flavanonas puras no dieron actividad tóxica significativa, pero la mezcla presentó alta acción tóxica con larvas de *Spodoptera sunia* y acción larvicida con *Galleria mellonella* y *Achroia grisella*.

Palabras claves

Cromatografía, monoterpenos, flavanonas, terpenoides, pupicida, larvicida.

SUMMARY

The ether extract of the aerial parts of *Dalea caerulea*, a colombian native shrub used in traditional insect control, was fractionated by chromatographic techniques guided by bioassays with *Artemia salina*. The main active fractions were purified and the fraction named F2 gave deterrent and insecticide effects on the adults of *Xenopsylla* sp. and *Macrosiphum rosae*. Four flavanones were isolated from fraction F7 which did not show significant toxicity, but the residual mixture gave high pupicide action on *Spodoptera sunia* and larvicide effects on *Galleria mellonella* and *Achroia grisella*.

Key words

Chromatography, monoterpenes, flavanones, terpenoids, pupicide, larvicide.

INTRODUCCION

Los terpenos, derivados del isopreno, son compuestos relacionados con el metabolismo secundario de las plantas, los cuales se presentan en cadena abierta o en forma de ciclos. Están ampliamente distribuidos en las plantas superiores y se conocen como monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos y otros, según esten constituidos por 2, 3, 4 o más unidades de isopreno. Son de amplio

-
- 1 M.Sc. Química, Universidad Nacional de Colombia - Bogotá, A.A. 23160, Bogotá.
 - 2 Profesor titular, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Bogotá.
 - 3 Profesor Asociado, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
 - 4 Profesor Asistente, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia - Bogotá, A.A. 430987, Bogotá.

uso comercial para perfumería e industria de alimentos (Torssell, 1983), pero, también, un gran número presentan actividad medicinal, fungicida, bactericida e insecticida y relacionados. Se han publicado estudios que dan cuenta de la presencia de hidrocarburos y alcoholes mono- y sesquiterpénicos en especies de las familias Umbelliferae, Rutaceae, Lauraceae, Myristicaceae, Labiatae, Gramineae, con acción insecticida contra *Acanthoscelides obtectus* Say (Regnault-Roger et al., 1993). En la misma forma, sesquiterpenos aislados de *Plumbago capensis* Thumb. y *Polygonum hydropiperoides* Michx se han reportado como antialimentarios (Wood, 1983). Aceites esenciales, generalmente constituidos por mono y sesquiterpenos, obtenidos de *Daucus carota* y *Tagetes erecta* exhiben actividad fungitóxica sobre *Aspergillus flavus* (Dwivedi et al., 1991) y sobre *Pythium aphanidermatum* (Kishore y Dwivedi, 1991), (Kubo y Himejima, 1992), respectivamente, entre muchos otros reportes.

Dalea coerulea (L.f.) Schinz. et Thellung (*Dalea mutisii* Kunth.), especie perteneciente a la familia Fabaceae, tribu Galegeae, nativa de Colombia, se encuentra abundante en los climas fríos por encima de los 1700 m.s.n.m., es usada por indígenas y campesinos para espantar las pulgas de las casas y de los animales y, también, se ha reportado para uso externo contra dermatosis (Barbosa, 1979).

En estudios preliminares, se estableció la actividad de extractos de la planta con larvas de *Musca domestica* (Arango y Niemeyer, 1992), resultado que propició el interés por conocer las sustancias responsables de la actividad manifiesta, trabajo realizado en los laboratorios de los Departamentos de Química de la Facultad de Ciencias y Departamento Agronomía, Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.

Los resultados muestran que una mezcla, constituida por mono y sesquiterpenos, obtenida del extracto en éter de petróleo de la parte aérea, tiene actividad tóxica con *Artemia salina* (Lich) e insecticida y repelente contra *Xenopsylla* sp. y *Macrosiphum rosae*. Otra fracción, también tóxica, al someterla a purificación química dió cuatro

flavanonas: glabranin, 7-O-metilglabranin, 6-C-metilglabranin y 5,7-dihidroxi-6-prenil-flavanona sin actividad tóxica manifiesta y una porción menor que se mostró como larvicida contra *Galleria mellonella* y *Achroia grisella* y pupicida contra *Spodoptera sunia*, está constituida por sesquiterpenos, derivados oxigenados y otros compuestos.

MATERIALES Y METODOS

Dalea coerulea fue recolectada en el Jardín Botánico "José Celestino Mutis" de Santafé de Bogotá y la determinación botánica la realizó el Dr. Roberto Jaramillo del Herbario Nacional Colombiano, en donde se encuentra un ejemplar bajo el número COL.361129.

En la fase preliminar, la parte aérea de *D. coerulea* se sometió a extracciones sucesivas con éter de petróleo (EP) y metanol (MeOH) y cada uno de los extractos se sometió a bioensayos de toxicidad. El extracto en EP presentó la mejor respuesta a los ensayos de acción tóxica e insecticida (Figuras 1 y 1A).

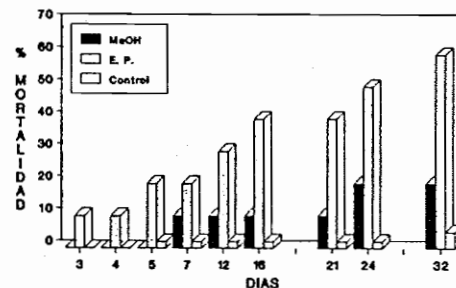


FIGURA 1. Efectos de los extractos de MeOH y EP de *D. coerulea* en larvas de *A. grisella* a la concentración del 2 %.

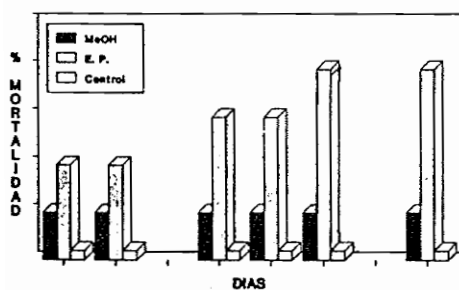


FIGURA 1A. Efectos de los extractos de MeOH y EP de *D. coerulea* en larvas de *G. mellonella* a la concentración del 2 %.

Trescientos g de la parte aérea de *D. coerulea* fueron sometidos a extracción con EP (60-80%) en Soxhlet. El extracto obtenido se concentró y se le adicionó metanol (MeOH) para precipitar las ceras y el filtrado se secó y el extracto sólido (4,7g) disuelto en EP se sometió a cromatografía de columna (CC) con gel de sílice (SiO₂), Merck y se eluyó con EP; EP + CHCl₃ (cloroformo); CHCl₃; CHCl₃ + AcOEt y AcOEt, siempre con mezclas de polaridad creciente. Se obtuvieron 16 fracciones de las cuales las denominadas F2 y F7 dieron resultados significativos a la prueba de toxicidad general con *Artemia salina* (Linch).

La fracción F2 se analizó por Cromatografía de Gases (CG) y Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (CG-EM). El perfil cromatográfico se obtuvo en un cromatógrafo de gases Shimadzu CG-8APF equipado con columna Carbowax 20M de 25 m de longitud (0,5 mm d.i.), con detector de ionización de llama (FID). Las condiciones de operación fueron las siguientes: Columna isotérmica por 4 min. a 50°C y, luego

de 50\$ a 220\$C, a 2 min. La temperatura del inyector y del detector se mantuvieron a 250\$C, con relación de split 10:1, volumen de la muestra 0,2 ml, el gas de arrastre fué Helio a 0,7 Kg./cm² y el gas auxiliar aire a 0,5 kg/cm² (Jennings et al, 1980; Ramaswami, 1986); los resultados se presentan en el cuadro 1. De la fracción F7, por nuevas CC repetitivas, se obtuvieron las flavanonas que, en estado puro, dieron prueba negativa al bioensayo de toxicidad general con *A. salina* y la mezcla de sesquiterpenos oxigenados y alcoholes que mostraron alta actividad. Esta mezcla fue caracterizada por CG y CG-EM.

Los análisis de actividad tóxica e insecticida se realizaron con los siguientes métodos:

Bioensayo general de toxicidad con *Artemia salina*

El diminuto crustáceo, *Artemia salina* (Lich), permite una detección preliminar de toxicidad de sustancias en forma confiable, rápida y a bajo costo. Los materiales necesarios para realizar la prueba son: Huevos de *Artemia salina*, sal marina; un tanque de vidrio (15 x 12) dividido en dos compartimientos con una lámina perforada, una parte se oscurece; lámpara, frascos de vidrio transparente de 10 ml.; micropipetas, 20 mg.de la muestra para probar, metanol grado absoluto.

Se prepararon soluciones de las sustancias para probar en metanol (20mg/ 2ml), de tal manera que, al agregar una alícuota a los frascos de vidrio, evaporar el solvente y adicionar 5 ml de agua de sal marina quedaran soluciones a 10, 100, 200 ppm., a las soluciones así preparadas se le adicionaron 10 larvas de *Artemia* por frasco y se dejan durante 24 horas; cada concentración se hace por triplicado, para las condiciones y a los resultados se adaptó el método de Meyer et al. (1982) y McLaughlin (1991).

Bioensayo de acción antialimentaria e inhibidores del crecimiento

Se procedió con larvas de segundo y tercer instar de *Galleria mellonella*, *Achroia grisella* y *Spodoptera sunia*, insectos reconocidos como plagas para la apicultura y la agricultura. Los

experimentos se realizaron en cámaras con parámetros controlados de temperatura promedio 18 a 20°C, fotoperíodos 12 h. de luz y 12 h. de oscuridad, humedad relativa del 90%.

Se utilizaron dos clases de dietas, una natural (hojas de higuera (*Ricinus comunis L.*) y otra artificial (agar-agar + harinas + levadura + vitaminas + minerales + preservativos), según especificaciones de López Avila (1981). La primera se preparó agregando soluciones metanólicas del sólido resultante del extracto EP a concentraciones de 200, 500 y 1000 ppm a hojas de higuera con área conocida y se dejó secar el solvente y, luego, se colocaron las larvas. Para la segunda dieta, se variaron las concentraciones de las soluciones para probar, así: se procedió como ya se indicó, pero preparando a concentraciones de 2% y 1% que se mezclaron con la dieta y se eliminó el solvente y, después, se pusieron las larvas. Los compuestos y fracciones cromatográficas se probaron con soluciones metanólicas preparadas a 200, 100 y 50 ppm. y se procedió como en el caso anterior. Para controlar la deshidratación, las cajas de Petri se cubrieron con plástico. En cada caja se colocaron 5 larvas de *G. mellonella* o de *A. grisella* y, en el caso de *S. sunia*, se colocó una larva para evitar el canibalismo; tres réplicas se diseñaron para los dos primeros insectos y 10 réplicas para el tercero y se

compararon contra un blanco (dieta sin tratamiento) y un patrón (insecticida de uso comercial Methamidofos, a 10 ppm.).

Observaciones continuas del comportamiento de las larvas y efecto de las sustancias se realizaron cada tres horas, inicialmente y, luego, cada 12 horas y, posteriormente, cada 48 horas. El porcentaje de mortalidad larval, pupicida y/o supervivencia se midió y se aplicó el factor de corrección, según el programa de análisis Allfit.

Bioensayo de respuesta olfatométrica.

Para corroborar la información recibida acerca del uso de la planta como insecticida, se realizó este bioensayo con pulgas (*Xenopsylla sp.*: Siphonaptera), tomadas directamente de perros de un mes de edad y con áfidos (*Macrosiphum rosae*: Homoptera), cuyas ninfas parásitas viven apiñadas en gran número sobre las hojas y partes tiernas los rosales, causándoles severos daños. Se adaptó el sistema propuesto por Jan Pettersson (1970), el cual se basa en la determinación semicuantitativa de la preferencia de los insectos bajo estudio por su permanencia en ciertas zonas previamente definidas de la cámara de observación "olfatómetro", la cual se muestra en la Figura 2.

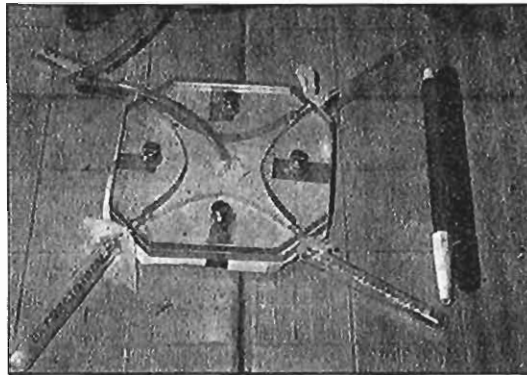


FIGURA 2. Cámara usada en el bioensayo de respuesta olfatométrica según el sistema propuesto por Pettersson (1970)

Las muestras probadas en este bioensayo fueron las siguientes:

- a.- Planta fresca de *D. coerulea* macerada en mortero.
- b.- Extracto a partir de planta fresca con EP.
- c.- Fracción F2 constituida por mono y sesquiterpenos.

Como referencia, se aplicó anetol (terpenol) y como blanco se colocaron tubos vacíos. Cada muestra se conectó a la cámara por medio de un tubo plástico y, en cada experimento, se colocaron 10 especímenes (pulgas o áfidos) y sus posiciones en los brazos de la cámara se observaron a diferentes tiempos hasta obtener 10 lecturas para cada experimento, el cual se repitió cinco veces y se graficaron en un mapa. Los resultados de estas observaciones se resumen en un mapa total acumulado del número de visitas de cada insecto a las diferentes zonas de la cámara. Estas zonas se caracterizan porque cada una está enriquecida por un único estímulo, debido al sistema de corriente generado por el vacío aplicado en el centro de la cámara.

Bioensayo de Contacto

Se realizó con pulgas y áfidos, probando el extracto total obtenido con EP a partir de planta fresca y los constituyentes de la fracción F2 de *D. coerulea*. En frascos de vidrio transparentes, cubiertos con una fina red, se colocaron algodones impregnados con una gota de la muestra para probar y, como en todos los casos, se preparó un blanco (algodón sólo) y un patrón de referencia (solución diluida de Methamidofos, 10 ppm); en cada frasco, se agregaron cinco pulgas y cada ensayo se hizo por triplicado y se repitió cinco veces; después de adicionar los insectos en los frascos, se hicieron observaciones continuas del comportamiento de los insectos o, en su defecto, la acción

de la sustancia, durante seis horas y se describieron las observaciones y se calculó el porcentaje de mortalidad y/o supervivencia.

RESULTADOS Y DISCUSION

El análisis químico mostró que la fracción F2 es una mezcla compleja, según el perfil cromatográfico de la figura 3 obtenido por CG. Cada uno de los picos registrados se analizaron por CG-EM, de donde se identificaron 6 monoterpenos y 12 sesquiterpenos los cuales se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Constituyentes de la fracción F2 de *Dalea coerulea*.

Pico No. (a)	Compuesto(b)	Pico(a)	Compuesto(b)
1	Etamol	17	Cariofileno
2	Cloroformo	18	No. ident.
3	Mirceno	19	No. ident.
4	Bornileno	20	Valenceno*
5	B-Fenlandreno	21	Aromadrendeno
6	B-Ocimeno (Z)	22	y-Muuruleno
7	B-Ocimeno (E)	23	Viridifloreño
8	No. ident.	24	a-Muuruleno
9	Allo ocimeno	25	No. ident.
10	No. ident.	26	5-Cadineno
11	a-Cubebano	27	No. ident.
12	No. ident.	28	y-Cadineno
13	No. ident.	29	Calameneno
14	a-Copaeno	30	Calacoreno
15	a-Gurjuneno	31	Ester**
16	B-Patchuleno	32	Cariofilenol

a= Número de cada pico en el perfil cromatográfico y de los espectros correspondientes obtenidos. b= Nombre del compuesto identificado por GC y GC-MS. **= Ester metílico del ácido 6,9,12,15,tetraeno doecosaicoico.

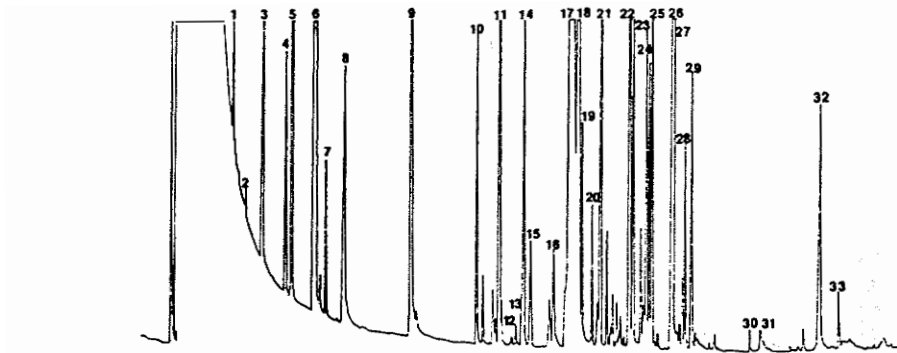


FIGURA 3. Perfil cromatográfico de la fracción F2 de *D. coerulea*, obtenido en un cromatógrafo de gases Shimadzu CG-8APF, columna Carbowax 20M de 25 m., (0.5 mm d.i.).

La fracción F7 está constituida por una mezcla compleja de compuestos caracterizados como sesquiterpenos, sesquiterpenoles, epóxidos y otros alcoholes, además de las cuatro flavononas nombradas en la introducción.

Bioensayos de actividad antialimentaria e inhibidora del crecimiento.

Los resultados preliminares con los extractos totales de *D. coerulea* en EP y MeOH controlados con larvas de segundo y tercer instar de *A. grisella* y *G. mellonella* con dieta artificial a concentraciones del 2% y 1%, que se presentan en las figuras 1 y 1A, respectivamente, evidencian que el extracto en éter de petróleo dió los mejores resultados con larvas de *A. grisella*, pues se obtuvo una mortalidad del 30% a los 12 días, la cual aumentó progresivamente con el desarrollo del estado larval, hasta llegar al 60% (Figura 1). Las larvas sobrevivientes presentaron un estado de aletargamiento e inapetencia, pero los adultos no sufrieron cambios morfológicos visibles. Con *G. mellonella*, se obtuvo mayor supervivencia, pues la mortalidad sólo llegó al 40% al final del ciclo. A concentración del 1%, la mortalidad de *A. grisella* y *G. mellonella* no es significativa, ya que las larvas consumieron normalmente la

dieta y los adultos no presentaron cambios morfológicos visibles.

El extracto de EP controlado con larvas de segundo y tercer instar *S. sunia* con dieta natural (hojas de *Ricinus communis*) presentó un efecto disuasivo de ingestión notable, dado que, comparado con el blanco, no se detectó ningún consumo de hojas impregnadas con las soluciones del extracto.

La figura 4 muestra los resultados obtenidos con larvas de *S. sunia* alimentadas con dieta artificial, en donde se ve claramente el alto porcentaje de mortalidad larval durante las primeras 24 horas de contacto con la dieta impregnada con el extracto al 2%. Durante las primeras 24 horas, se detectaron síntomas fácilmente visibles, tales como cambios morfológicos (Figura 5), de hábito y de comportamiento, pues las larvas suspendieron el consumo del alimento y hubo dificultad en el movimiento de las patas traseras, postración y abultamiento torácico. A las 24 horas, se cuantificó el 100% de mortalidad y se produjo necrosis de las larvas. Con la concentración del 1%, la mortalidad se presentó más lenta, llegando al 70% a los 8 días, cuando se obtuvo el máximo de mortalidad; las larvas sobrevivientes consumieron muy poca cantidad de la dieta compara-

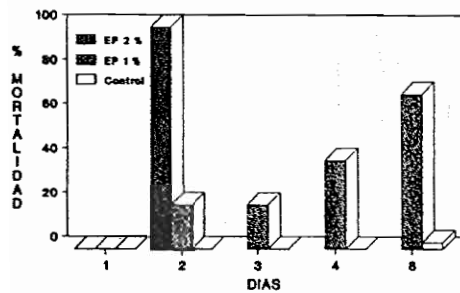


FIGURA 4. Mortalidad de larvas de *S. sunia* con el extracto EP de *D. coerulea* a concentración del 1% y 2%.

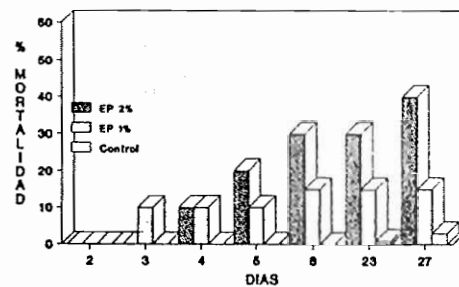


FIGURA 5. Mortalidad de larvas de *A. grisella* con el extracto EP de *D. coerulea* a concentraciones de 1% y 2%.

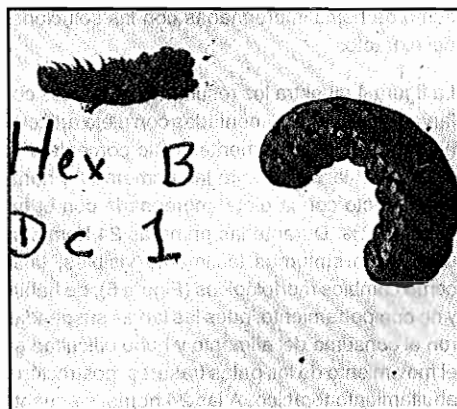


FIGURA 6. Larvas de *S. sunia* afectadas por el extracto de eter de petróleo de *D. coerulea*

da con el control y los adultos que emergieron no mostraron cambios morfológicos visibles.

A diferencia de *S. sunia*, con larvas de *A. grisella* la mortalidad fue menor. Las larvas comenzaron consumiendo la dieta normalmente y, al cabo de los 8 días, disminuyeron la ingesta, con el extracto a una concentración del 2%, obteniéndose un 40% de mortalidad a los 27 días (Figura 6). A la mitad de ésta concentración se observó un 15% de mortalidad. Los adultos emergentes fueron normales.

Los resultados obtenidos con larvas de *A. grisella* y de *S. sunia*, que se observan en las figuras 7 y 8, respectivamente y probadas con las fracciones F2, F7 y las flavanonas puras (F10, F12, F15) permitieron detectar una diferencia significativa en la respuesta de cada insecto.

En la figura 7 no se observa mortalidad significativa de las larvas de *A. grisella*, en ninguna de las fracciones y sólo se tuvo una mortalidad del 25% en la fracción F7, comparadas con el blanco donde se produjo el 2%. Para las demás fracciones, al día 23 se observó un promedio del 80% de

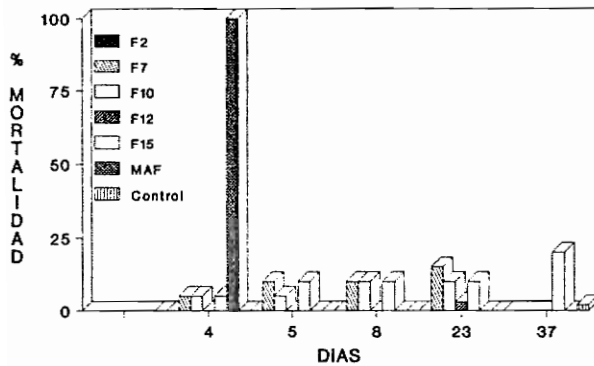


FIGURA 7. Mortalidad con larvas de *A. griseola* con extracto EP de *D. coerulea* a 200 y 100 ppm y methamidofos (MAF) 10 ppm.

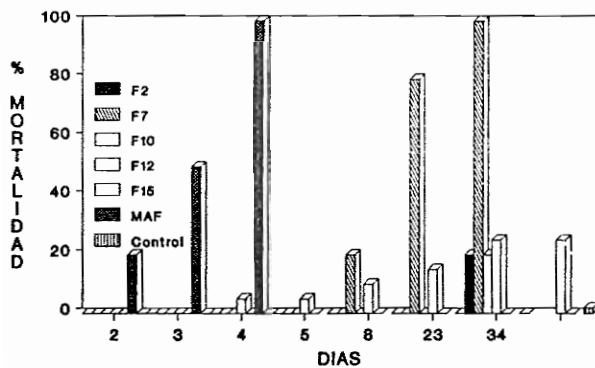


FIGURA 8. Mortalidad de pupas de *S. sunia* con extracto EP de *D. coerulea* a 200 y 100 ppm y de methamidofos (MAF) a 10 ppm.

pupación y, en el día 50, la emergencia total de adultos normales. Sin embargo, con *S. sunia* (figura 8) se encontró que el comportamiento de las larvas durante las tres primeras horas era de un estado excitado con movimientos atípicos; a las 18 horas, se observaron nuevamente y estaban muy pasivas y habían consumido poca dieta, especialmente en la fracciones F7 y F12. En esta última, se encontraron algunas larvas (25%) con abultamiento de tórax y cabeza, las cuales, finalmente, mueren y presentan obscurecimiento. En los adultos emergentes no se detectaron cambios morfológicos visibles. En la fracción F7, se observó un consumo mínimo de la dieta y la inactividad de las larvas. Al día 34 se tenía el 100% en estado de pupa; al día 37, las pupas que normalmente tenían un color marrón brillante muy llamativo, presentaban un color muy oscuro y, al examinarlas a través del estereoscopio, se observó que la mayoría de las pupas tenían malformaciones en la parte dorsal. En este día, se tabuló un 97% de emergencia de las pupas en el blanco; asimismo, se determinaron altos porcentajes de emergencia en las demás fracciones. Se esperó hasta el día 40 para asegurar la no emergencia de adultos en F7 y, efectivamente, se confirmó la acción pupicida de esta fracción frente a *S. sunia*.

Bioensayo de Respuesta Olfatómetrica

En el cuadro 2, se consignan los resultados obtenidos para la planta fresca, el extracto total y la fracción F2 de *D. coerulea* frente a adultos de pulgas (*Xenopsylla sp.*). Los datos obtenidos de los cinco experimentos, cada uno con 10 insectos y 10 observaciones por experimento, produjeron un mapa acumulativo de cada ensayo. El valor promedio de la localización puntual del total de experimentos permitió deducir que los insectos olfatómetricamente prefieren estar más tiempo en el brazo de la cámara donde no estaba afectado por la fracción F2 y el anetol. En la planta fresca, en el extracto total y en el blanco se determinó mayor porcentaje de visitas, indicando que los insectos son olfatómetricamente repelidos por esta fracción, muy seguramente por la presencia de volátiles no agradables a su olfato. Cabe anotar que las pulgas mueren después de

Cuadro 2. Respuesta olfatométrica de pulgas (*Xenopsylla sp.*) frente a extractos y fracciones de *D. coerulea*.

Experimento	Planta fresca	Extracto total	F2	Anetol	Blanco
1	14	18	10	18	32
2	24	13	9	10	20
3	18	10	10	8	25
4	20	15	10	8	31
5	16	16	8	6	22
Promedio	18.4	14.4	9.4	10	26

ocho horas de haber sido sometidas al bioensayo, comparadas con un blanco independiente del olfatómetro, donde las pulgas se mantuvieron vivas por más de 24 horas.

Este experimento se repitió con áfidos (*M. rosae*) en la misma forma descrita para las pulgas. Los resultados consignados en el cuadro 3 muestran, efectivamente, respuestas similares con los áfidos frente a la fracción F2, donde sólo el 4% de ellos visitaron la zona que estaba estimulada por ésta fracción, indicando, así, repelencia olfatométrica a sus constituyentes. Los pulgones mueren después de ocho horas de ser sometidos al bioensayo.

Bioensayo de contacto

Con la fracción F2, se obtuvieron los siguientes resultados:

- Durante los primeros minutos de permanecer en contacto con las sustancias, las pulgas presentaron movimientos acelerados de las extremidades, intentando salir del lugar.
- Después de los 15 minutos de permanecer en contacto con la muestra, las pulgas pierden su capacidad motora.
- Antes de una hora, caen en un estado de aletargamiento y, finalmente, mueren.

En el patrón de referencia (Methamidofos), se observó un comportamiento similar al ya descrito, presentándose mortalidad total a un tiempo muy inferior que en la muestra. En el blanco, hubo total sobrevivencia y comportamiento normal hasta después de 12 horas. El bioensayo se repitió cinco veces, obteniéndose siempre resultados similares. De igual forma, los áfidos se sometieron a éste bioensayo y se encontró que, también, eran fuertemente afectados al permanecer en contacto con la fracción F2 y mueren dentro del mismo tiempo que las pulgas.

Cuadro 3. Respuesta olfatométrica de áfidos (*M. rosae*) frente a extractos y fracciones de *D. coerulea*.

Experimento	Planta fresca	Extracto total	F2	Anetol	Blanco
1	10	6	6	6	22
2	9	8	5	8	21
3	7	0	3	0	26
4	10	12	5	12	22
5	10	4	1	4	28
Promedio	9.2	6	4	6	23.8

CONCLUSIONES

El extracto en éter de petróleo de la parte aérea de *D. coerulea* tiene actividad tóxica contra *A. salina*; mostró mayor acción antialimentaria en los bioensayos con larvas de *S. sunia* y dieta natural. La actividad tóxica de *D. coerulea* se muestra específicamente como larvicida con *G. mellonella* y *A. grisella*; pupicida con *S. sunia* e insecticida para *Xenopsylla sp* (pulgas) y *M. rosae* (áfidos). La primera fracción activa (F2) está constituida por seis monoterpenos, 12 sesquiterpenos plenamente identificados y otros componentes no identificados. Esta fracción tiene actividad tóxica selectiva y respondió como

insecticida contra pulgas y áfidos, sin afectar las larvas y pupas de *S. sunia* y *A. grisella*. Otra fracción activa (F7) contiene cuatro flavanonas y una mezcla muy heterogénea. Las flavanonas en estado puro no tienen actividad significativa contra *A. salina*, pero la mezcla compleja de la fracción F7 sin flavanonas es poco activa como larvicida con *A. grisella* y altamente pupicida con *S. sunia*.

AGRADECIMIENTOS

Al programa "Latin American Network for Research in Bioactive Natural Products" (LANBIO) y a la Comunidad Económica Europea (CEE), por el aporte financiero otorgado para el desarrollo de esta investigación.

LITERATURA CITADA

1. **ARANGO, A. I., & NIEMEYER, H. 1992.** Determinación de la Actividad Insecticida en Diferentes Especies Vegetales. Resúmenes III Encuentro Nacional de Fitoquímica, Cali, Colombia. 42p.
2. **BARBOSA, C. E. 1979.** Flora Genérica de Colombia, Familia Leguminosa, Tribu Galegeae. Tesis de Grado, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
3. **DAVIES, N. W. 1990.** Gas Chromatographic Retention Indices of Monoterpenes and Sesquiterpenes on Methyl Silicone and Carbowax 20M Phases. *Journal of Chromatography* 503: 1.
4. **DWIVEDI, S. K., DWIVEDI, R. S., PANDEY, V. N. & DUBEY, N. K. 1991.** Effect of Essential Oils of Some Higher Plants on *Aspergillus flavus* Link. Infesting Stored Seeds of Guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L. (Taub.)), *Flavour and Fragrance Journal* 6: 295.
5. **HUANG, Z. H. 1984.** Habits of *Galleria mellonella* L. and *Achroia grisella* Fabr. and Methods of control. *Insect Knowledge* 21(1): 36. { In Apicultural Abstracts 1988 39, (3)}.
6. **JENNINGS, W. & SHIBAMOTO, T. 1980.** Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography. Academic Press, New York.
7. **KISHORE, N. & DWIVEDI, R. S. 1991.** Fungitoxicity of the Essential oil of *Tagetes erecta* L. against *Pythium aphanidermatum* Fitz. the Damping-off Pathogen. *Flavour and Fragrance Journal* 6: 291.
8. **KUBO, I. & HIMEJIMA, M. 1992.** Potentiation of Antifungal Activity of Sesquiterpene Dialdehydes Against *Candida albicans* and two other Fungi. *Experientia* 48:1162.
9. **LOPEZ, A. 1981.** Estudios básicos para cría de *Meteorus laphygmae* parásito de *Spodoptera frugiperda*. Tesis M. Sc. Universidad Nacional de Colombia, ICA, Bogotá.
10. **McLAUGHLIN, J. L. 1991.** Crown Gall Tumours on Potato Disk & Brine Shrimp Lethality: Two Simple Bioassays for Higher Plant Screening and Fractionation. In: J. Harborne (Ed.). *Method in Plant Biochemistry* Vol 6.
11. **MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTMAN, J. E., JACOBSEN, J. R., NICHOLS, D. E. & McLAUGHLIN, J. L. 1982.** Brineshrimp Bioassays: a Simple Method for Cytotoxic Activity. *Planta Medica* 45: 31.
12. **PETTERSSON, J. 1970.** Studies on *Rhopalosiphum padi* (L.) I. Laboratory Studies on olfactometric responses to the winter host *Prunus padus* L. *Lantbrukshogskolans Annaler* 36: 381.
13. **REGNAULT-ROGER, A., HAMRAOUI, M., HOLEMAN THERON, E. & PINEL, R. 1993.** Insecticidal Effect of Essential Oils from Mediterranean Plants Upon *Acanthoscelides obtectus* SAY (Coleoptera, Bruchidae), a Peste of Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Chemical Ecology*, 19: 1233.
14. **RAMASWAMI, S. K., BRISCESE, P., GARGIULLO, R. J. & VON GELDERN, T. 1986.** In: B. M. Lawrence, B. D. Mookherjee and B. J. Willis (Eds). *Flavors and Fragrance: A World Perspective* (Proceedings of the 10th International Congress of Essential Oils, Fla-

- vors and Fragrance, Sesquiterpene Hydrocarbons: From Mass Confusion to Orderly Line-Up). Washington, D. C.
15. TORSSELL, K. B. G. 1983. Natural Product Chemistry. A Mechanistic and Biosynthetic Approach to Secondary Metabolism. John Wiley, New York.
16. WOOD, W. F. 1983. Chemical Ecology: Chemical Communication in Nature. Journal of Chemical Education 60: 532.