

AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE DE EXTRATOS AQUOSOS DE MELIACEAE  
SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH)

Cesáreo Rodríguez Hernández<sup>1</sup>  
José Djair Vendramim<sup>2</sup>

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com atividade inseticida como método alternativo de controle de insetos se deve principalmente ao surgimento da resistência dos insetos aos inseticidas organossintéticos, à contaminação causada por estes, à presença de resíduos químicos tóxicos nos alimentos, e à intoxicação dos operários aplicadores de inseticidas.

Atualmente a planta considerada de maior atividade inseticida é *Azadirachta indica* (KOUL et al., 1990; SCHMUTTERER, 1990), conhecida, no Brasil, por nim. Pela sua ação tóxica, inibição da alimentação e do crescimento, e redução da fecundidade nos insetos, os extratos desta planta têm-se destacado como o inseticida botânico mais estudado nos últimos 15 anos (MORDUE (LUNTZ) & BLACKWELL, 1993). A ampla atividade biológica dessa planta tem incentivado a produção de inseticidas naturais, bem como a busca de novas substâncias com atividade inseticida.

*A. indica* pertence à família das meliáceas na qual também se incluem outras espécies com atividade inseticida como *Melia azedarach* (McMILLIAN et al., 1969; ANWAR et al., 1992; HUANG et al., 1995) e diversas espécies de *Trichilia* (HERNÁNDEZ et al., 1983; LAGUNES et al., 1984; MIKOLAJCZAK & REED, 1987; MIKOLAJCZAK et al., 1989; RODRÍGUEZ & LAGUNES, 1992; XIE et al., 1994). Esses trabalhos, no entanto, normalmente se

<sup>1</sup> Programa de Entomologia, Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, 56230 Montecillo, Edo. de México, México.

<sup>2</sup> Dep. de Entomologia, ESALQ/USP. Caixa Postal 9. CEP 13418-900 Piracicaba-SP, Brasil.

restringem a extratos não aquosos de tal modo que pouco se conhece a respeito da atividade inseticida dos compostos hidrossolúveis presentes nas meliáceas. Tais compostos podem proporcionar, ao agricultor de baixa renda, um método fácil, natural e econômico de manejo de insetos, utilizando as ferramentas do seu próprio ecossistema. Assim, esta pesquisa teve por objetivo avaliar, em laboratório, o efeito dos extratos aquosos de meliáceas em relação a *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith).

## MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no laboratório de Resistência de Plantas a Insetos do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, à  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 14 h.

Foram avaliadas 12 espécies de meliáceas: *Azadirachta indica* (sementes), *Cabralea canjerana* (folhas), *Cedrela fissilis* (folhas), *Cedrela odorata* (folhas, caules e sementes), *Guarea guidonia* (folhas), *Guarea kunthiana* (folhas), *Guarea macrophylla* (folhas), *Melia azedarach* (frutos), *Toona ciliata* (folhas e caules), *Swietenia macrophylla* (folhas), *Trichilia catigua* (folhas) e *Trichilia clausenii* (folhas e caules).

As plantas foram coletadas no Estado de São Paulo (exceto *A. indica*, proveniente da República Dominicana). Após secagem em estufa, a  $40^{\circ}\text{C}$ , por três dias, as partes vegetais a serem testadas foram trituradas em moinho de facas até a obtenção de pó fino, com o qual foram obtidos os respectivos extratos aquosos à concentração de 5% (5 g de pó em 100 ml de água destilada). Após a extração por 24 h, foi feita a filtração através de um tecido fino e obtida a parte líquida para avaliação. Este extrato foi incorporado à dieta para *Spodoptera frugiperda* (BURTON & PERKINS, 1972), na proporção de 20% (230 ml de extrato para 1150 g de dieta), com o cuidado de adicioná-lo, ao final, quando a dieta estava à temperatura aproximada de  $50^{\circ}\text{C}$ , para evitar possível perda de compostos bioativos. Além das dietas correspondentes a cada tratamento, foi também preparada uma dieta

testemunha, sem extrato. Depois da preparação, as dietas foram vertidas em tubos de vidro ( $8,5 \times 2,5$  cm), tampados com algodão hidrófugo e previamente esterilizados em estufa a  $100^{\circ}\text{C}$  por 1 h. Após a colocação da dieta, os tubos (100 por tratamento) foram mantidos por 24 h em grades de arame para eliminação do excesso de umidade (gotículas) das suas paredes. A seguir, foi feita a inoculação das lagartas recém-eclodidas de *S. frugiperda*, utilizando-se uma lagarta por recipiente. Foram realizados 5 bioensaios; as partes vegetais (tratamentos) foram incluídas em cada um deles à medida que foram coletadas. As variáveis avaliadas foram: duração das fases larval e pupal, peso das pupas, e porcentagem de insetos vivos (viabilidade) ao final de cada fase. Em todos os bioensaios, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 20 repetições. A unidade experimental foi constituída por 5 tubos com uma lagarta cada. Os dados foram submetidos à análise de variância. A comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Não foram incluídos na análise os tratamentos com viabilidade larval inferior a 10%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No bioensaio I em que foram avaliados os extratos de folhas de três espécies de *Guarea* (Tabela 1), verificou-se que somente o extrato de folhas de *G. macrophylla* apresentou pequeno efeito tóxico (inibição do crescimento), já que os insetos criados neste tratamento apresentaram alongamento da fase pupal (0,6 dia), em relação à testemunha e a *G. kunthiana*. Para os demais parâmetros, com *G. macrophylla* e as outras duas espécies, os resultados obtidos foram similares aos registrados na testemunha.

No bioensaio II, no qual se incluíram folhas de *Cabralea canjerana*, *Trichilia catigua* e *Trichilia clausenii* (Tabela 2), apenas a primeira espécie provocou algum efeito na biologia de *S. frugiperda* já que no referido tratamento o peso de pupas foi de 26 mg menor (88,5% do peso obtido na testemunha) o que sugere inibição de alimentação ou me-

**Tabela 1.** Duração e viabilidade das fases larval e pupal, e peso de pupas de *Spodoptera frugiperda* criada em dieta artificial com extratos de melíaceas. Bioensaio I. Temperatura:  $25 \pm 20^\circ\text{C}$ , UR:  $60 \pm 10\%$  e foto-fase: 14 h. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si (Tukey, ao nível de 5%).

Espécie de Planta	Duração (dias)		Viabilidade (%)		Peso de Pupa (mg)
	Larval	Pupal	Larval	Pupal	
<i>Guarea guidonia</i> (Folhas)	18,9 a	14,0 ab	98,0 a	96,0 ab	272,1 a
<i>Guarea kunthiana</i> (Folhas)	18,8 a	13,9 b	98,0 a	100 a	280,1 a
<i>Guarea macrophylla</i> (folhas)	19,2 a	14,5 a	98,0 a	90,7 b	279,9 a
<i>Testemunha</i>	19,0 a	13,9 b	99,0 a	95,0 ab	273,2 a
CV	4,7%	4,5%	5,9%	8,4%	3,8%
Δ (5%)	0,7	0,5	4,8	6,7	8,7

nor eficiência de conversão do alimento ingerido.

No bioensaio III, em que foram comparados os extratos à base de sementes de *A. indica* e folhas de *Cedrela fissilis*, *Cedrela odorata* e *Swietenia macrophylla* (**Tabela 3**). verificou-se que todas as lagartas criadas na dieta com *A. indica* morreram no início do seu desenvolvimento. No tratamento em que se utilizaram folhas de *S. macrophylla*, houve, em relação à testemunha, alongamento das fases larval (4,6 dias) e pupal (0,6 dia) (o que indica inibição de crescimento) e redução do peso de pupas (21,3 mg), o que sugere inibição da alimentação ou menor eficiência de conversão alimentar. Já com folhas de *C. fissilis* e *C. odorata*, o desenvolvimento de *S. frugiperda* foi semelhante ao observado na testemunha.

No bioensaio IV onde foram avaliados os extratos de frutos de *M. azedarach*, folhas de *Toona ciliata* e caules de *T. clausenii* (**Tabela 4**), a maior atividade inseticida foi obtida com *M. azedarach*, com reduzidas viabilidades larval (16,0%) e pupal (42,3%), comparadas à testemunha (99,0 e 100,0%, respectivamente), além de alongamento da fase larval (10 dias) e redução do peso de pupas (121,3 mg) em relação à testemunha. O prolongamento do período de desenvolvimento e a diminuição no peso de pupas nos indivíduos sobreviventes neste tratamento indicam que, além de inibir o crescimento larval, é possível que também tenha ocorrido inibição na alimentação ou menor eficiência de conversão do alimento ingerido, o que, segundo TANZUBIL & McCAFFERY (1990), ocorre quando os insetos são sujeitos a altas doses de substância tóxica. Deve-se destacar que, ao final da fase larval, ocorreu a formação de indivíduos intermediários entre pré-pupa e pupa, o que reduziu a porcentagem de adultos emergidos. Segundo TANZUBIL & McCAFFERY (1990), isto ocorre quando a atividade do hormônio juvenil é afetada. Já no tratamento em que se utilizou *T. ciliata*, a fase larval foi prolongada em 14,2 dias e o peso de pupas reduzido em 45,7 mg em relação à testemunha, o que indica inibição do crescimento e possível inibição da alimentação ou menor eficiência na conversão alimentar. Finalmente, no

**Tabela 2.** Duracão e viabilidade das fases larval e pupal, e peso de pupas de *Spodoptera frugiperda* criada em dieta artificial com extratos de meliáceas. Bioensaio II. Temperatura:  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR:  $60 \pm 10\%$  e fotofase: 14 h. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si (Tukey, ao nível de 5%).

Espécie de Planta (folhas)	Duracão (dias)		Viabilidade (%)		Peso de Pupa (mg)
	Larval	Pupal	Larval	Pupal	
<i>Cabralia canjerana</i>	18,7 a	10,3 a	81,0 a	96,5 a	199,4 b
<i>Trichilia catigua</i>	17,9 a	10,2 a	69,0 a	96,6 a	224,0 a
<i>Trichilia clausenii</i>	17,9 a	10,4 a	68,0 a	89,2 a	215,7 a
<i>Testemunha</i>	17,4 a	10,1 a	78,0 a	94,4 a	225,4 a
CV	9,7%	5,4%	26,4%	12,1%	8,8%
Δ (5%)	1,3	0,4	16,2	9,0	14,7

**Tabela 3.** Duração e viabilidade das fases larval e pupal, e peso de pupas de *Spodoptera frugiperda* criada em dieta artificial com extratos de meliáceas. Bioensaio III. Temperatura:  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , UR:  $60 \pm 10\%$  e fotofase: 14h. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si (Tukey, ao nível de 5%).

Espécie de Plantas	Duração (dias)		Viabilidade (%)		Peso de Pupa (mg)
	Larval	Pupal	Larval	Pupal	
Azadirachta indica (sementes)	---	---	0,0	---	---
Cedrela fissilis (folhas)	16,5 b	10,9 b	94,0 a	98,0 a	278,1 a
Cedrela odorata (folhas)	15,9 b	11,1 b	89,0 a	99,0 a	275,1 a
Swietenia macrophylla (folhas)	20,7 a	11,5 a	95,0 a	94,0 a	243,3 b
Testemunha	16,1 b	10,9 b	96,0 a	96,0 a	264,6 a
CV	9,5%	4,6%	11,5%	7,5%	6,8%
Δ (5%)	1,4	0,4	8,9	6,1	14,9

1 Excluído da análise estatística.

**Tabela 4.** Duração e viabilidade das fases larval e pupal, e peso de pupas de *Spodoptera frugiperda* criada em dieta artificial com extratos de meliáceas. Bioensaios IV. Temperatura  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR:  $60 \pm 10\%$  e foto-fase: 14 h. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si (Tukey, ao nível de 5%).

Espécie de Planta	Duração (dias)		Viabilidade (%)		Peso de Pupa (mg)
	Larval	Pupal	Larval	Pupal	
<i>Melia azedarach</i> (frutos)	27,2	b	12,1	b	16,0
<i>Toona ciliata</i> (folhas)	31,4	a	12,2	b	97,0
<i>Trichilia clausenii</i> (caules)	19,9	c	12,6	b	100
<i>Festemunha</i>	17,2	d	13,5	a	99,0
CV	5,7%	5,9%	11,3%	23,2%	8,0%
Δ (5%)	1,2	0,7	7,3	18,4	17,9

tratamento com *T. clausenii*, a duração da fase larval foi afetada (aumento de 2,7 dias), verificando-se, portanto, inibição no crescimento, o que se assemelha aos resultados obtidos por XIE et al. (1994). Assim ao serem comparados os efeitos de folhas (**Tabela 2**) e caules (**Tabela 4**) de *T. clausenii* sobre *S. frugiperda* observa-se que apenas estes apresentaram atividade tóxica. Embora tenha ocorrido redução da fase pupal (0,9 a 1,4 dia), nos três extratos avaliados no bioensaio IV, o alongamento da fase larval (2,7 a 14,2 dias) foi proporcionalmente mais evidente, o que permite reiterar a ocorrência de inibição de crescimento quando se considera todo o período de desenvolvimento estudado.

No bioensaio V, em que foram avaliados os extratos de caules e sementes de *C. odorata* e de caules de *T. ciliata* (**Tabela 5**), constatou-se a maior atividade inseticida no extrato de sementes de *C. odorata*, no qual a viabilidade larval foi de apenas 4,0%, as fases larval e pupal foram prolongadas e o peso de pupa reduzido. No extrato à base de caules dessa espécie, a viabilidade foi semelhante à registrada na testemunha, ocorrendo, porém, alongamento das fases larval e pupal (1,1 e 0,5 dia, respectivamente) o que denota inibição do crescimento. O extrato à base de caules de *T. ciliata* não evidenciou efeito tóxico.

Na espécie *C. odorata*, a maior atividade inseticida foi detectada nas sementes; nos caules, a toxicidade foi baixa e, nas folhas, nenhum efeito foi observado (**Tabelas 3 e 5**).

Em relação a *T. ciliata*, os dados obtidos com o extrato das folhas (**Tabela 4**) e dos caules (**Tabela 5**), evidenciam que apenas o primeiro apresentou efeito tóxico.

O prolongamento da fase larval devido ao crescimento lento do inseto (inibição do crescimento), sem diminuir o peso de pupa, como ocorreu com os extratos de caules de *T. clausenii* (**Tabela 4**) e *C. odorata* (**Tabela 5**), possivelmente tenha sido provocado pela ocorrência de doses baixas de substâncias tóxicas, já que segundo TANZUBIL & McCAFFERY

**Tabela 5.** Duração e viabilidade das fases larval e pupal, e peso de pupas de *Spodoptera frugiperda* criada em dieta artificial com extratos de melíaceas. Bioensaio V. Temperatura:  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR:  $60 \pm 10\%$  e foto fase: 14 h. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si (Tukey, ao nível de 5%).

Espécie de Planta (caules)	Duração (dias)		Viabilidade (%)		Peso de Pupa (mg)
	Larval	Pupal	Larval	Pupal	
<i>Cedrela odorata</i> (caules)	16,9 a	10,6 a	96,0 a	100 <sup>1</sup>	276,0 a
<i>Cedrela odorata</i> (sementes)	30,2 <sup>1</sup>	12,3 <sup>1</sup>	4,0 <sup>1</sup>	75,0 <sup>1</sup>	174,7 <sup>1</sup>
<i>Toona ciliata</i> (caules)	15,9 b	10,1 b	96,0 a	100 <sup>1</sup>	267,1 b
Testemunha	15,8 b	10,1 b	99,0 a	100 <sup>1</sup>	263,8 b
CV	4,9%	4,3%	7,4%	...	4,2%
Δ (5%)	0,6	0,3	5,5	...	8,6

<sup>1</sup> Não analisado estatisticamente.

(1990), com estas doses, inibe-se o crescimento mas não se inibe a alimentação.

A maior duração da fase larval, em campo, manterá o inseto, por mais tempo, propenso ao ataque de inimigos naturais, além de levar à emergência de adultos com assincronia fenológica em relação à população normal e diminuir o número de gerações do inseto no ciclo agrícola (TANZUBIL & McCAFFERY, 1990).

O prolongamento da fase larval relaciona-se geralmente com menor ingestão de alimento por existir, neste, um ou vários deterrentes ou por ocorrer desequilíbrio nutricional. Assim, em campo, o crescimento lento das lagartas levará a um menor consumo de alimento, ocasionando menor dano nas plantas.

Menor peso das pupas indica menor consumo de alimento ou menor eficiência de conversão do alimento ingerido, possivelmente devido à presença de deterrentes ou ausência de fago-estimulantes. Desta maneira, pupas com menor peso darão origem a adultos menores e mais fracos, com menor capacidade de competição para as atividades vitais da espécie.

## CONCLUSÕES

1. Das 12 espécies de meliáceas avaliadas como extratos aquosos, oito (*Azadirachta indica*, *Cabralea canjerana*, *Cedrela odorata*, *Guarea macrophylla*, *Melia azedarach*, *Sweitenia macrophylla*, *Toona ciliata* e *Trichilia clausenii*) apresentaram ao menos uma das estruturas vegetais com atividade tóxica em relação a *Spodoptera frugiperda*.

2. À concentração de 5%, nenhuma estrutura vegetal testada apresenta atividade inseticida superior à das sementes de *A. indica*.

3. As sementes de *A. indica* e *C. odorata* e os frutos de *M. azedarach* provocam alta mortalidade larval (acima de 80%).

4. Os caules de *C. odorata* e *T. clausenii*, as folhas de *C. canjerana*, *G. macrophylla*, *S. macrophylla* e *T. ciliata* e os frutos de *M. azedarach* afetam o desenvolvimento de *S. frugiperda*, alongando a fase imatura e/ou reduzindo o peso de pupas.

**RESUMO**

Avaliou-se o efeito de extratos aquosos de 12 espécies de meliáceas sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). O extrato foi incorporado à dieta artificial oferecida ao inseto durante toda a fase larval. As variáveis avaliadas foram a duração e viabilidade larval e pupal e o peso de pupas. Mortalidade larval superior a 80% foi obtida com os extratos de frutos de *Melia azedarach* e de sementes de *Azadirachta indica* e *Cedrela odorata*. Com os extratos de caules de *C. odorata* e *Trichilia clausenii*, folhas de *Cabralea canjerana*, *Guarea macrophylla*, *Swietenia macrophylla* e *Toona ciliata* e frutos de *M. azedarach* houve inibição de crescimento. As folhas de *Cedrela fissilis*, *C. odorata*, *Guarea guidonia*, *Guarea kunthiana*, *Trichilia catigua* e *T. clausenii* e caules de *T. ciliata* não apresentaram atividade tóxica.

**Palavras-chave:** Plantas com atividade inseticida, inseticidas botânicos, *Azadirachta indica*, lagarta-do-cartucho.

**SUMMARY****BIOACTIVITY EVALUATION OF AQUEOUS EXTRACTS OF MELIACEAE TO *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH)**

The effect of aqueous extracts from 12 Meliaceae species was evaluated on the development of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). The extract was incorporated into an artificial diet and offered to *S. frugiperda* during its entire larval stage. The variables evaluated were length and viability of larval and pupal stages and weight of pupae. Larval mortality above 80% was obtained with the extracts from fruits of *Melia azedarach* and seeds of *Azadirachta indica* and *Cedrela odorata*. Extracts from stems of *C. odorata* and *Trichilia clausenii*, leaves of *Cabralea canjerana*, *Guarea macrophylla*, *Swietenia macrophylla* and *Toona ciliata* and fruits of *M. azedarach* caused growth inhibition. Leaves of

*Cedrela fissilis*, *C. odorata*, *Guarea guidonia*, *Guarea kunthiana*, *Trichilia catigua* and *T. clausenii* and stems of *T. ciliata* did not show any toxic activity.

**Key words:** Plants with insecticidal activity, botanical insecticides, fall armyworm, *Azadirachta indica*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANWAR, T.; A. JABBAR; F. KHALIQUE; S. THAIR; M.A. SHAKEEL, 1992. Plants With Insecticidal Activities Against Four Major Insect Pests in Pakistan. *Tropical Pest Management*, 38(4): 431-437.
- BURTON, R.L. & W.D. PERKINS, 1972. WSB, a New Laboratory Diet For the Corn Earworm and the Fall Armyworm. *Journal of Economic Entomology*, 65(2): 385-386.
- HERNÁNDEZ X., E.; F. INZUNZA M. & C.B. SOLANOS S., 1983. Intentos de Control de Plagas y Enfermedades Identificadas en la Agricultura Tradicional en México. *Chapingo*, 40: 55-56.
- HUANG, R.C.; J.B. ZHOU; H. SUENAGA; K. TAKEZAKI; K.TADERA; M. NAKATANI, 1995. Insect Antifeeding Property of Limonoids from Okinawan and Chinese *Melia azedarach* L., and from Chinese *Melia toosendan* (Meliaceae). *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 59(9): 1755-1757.
- KOUL, O.; M.B. ISMAN & C.M. KETKAR, 1990. Properties and Uses of Neem, *Azadirachta indica*. *Canadian Journal of Botany*, 68(1): 1-11.
- LAGUNES, T., A.; C. ARENAS L. & C. RODRÍGUEZ H., 1984. *Extractos Acuosos y Polvos Vegetales con Propiedades Insecticidas*. Chapingo, Centro de Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados. 203p.
- McMILLIAN, W.W.; M.C. BOWMAN; R.L. BURTON; K.J. STARKS; B.R. WISEMAN, 1969. Extract of Chinaberry Leaf as a Feeding Deterrent and Growth Retardant for Larvae of the Corn Earworm and Fall Armyworm. *Journal of Economic Entomology*, 62(3): 708-710.
- MIKOLAJCZAK, K.L. & D.K. REED, 1987. Extractives of Seeds

- of the Meliaceae: Effects on *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), *Acalymma vittatum* (F.), and *Artemia salina* Leach. *Journal of Chemical Ecology*, 13(1): 99-111.
- MIKOŁAJCZAK, K.L.; B.W. ZILKOWSKI & R.J. BARTELT, 1989. Effect of Meliaceous Seed Extracts on Growth and Survival of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *Journal of Chemical Ecology*, 15(1): 121-128.
- MORDUE (LUNTZ), A.J. & A. BLACKWELL, 1993. Azadirachtin: An Up Date. *J. Insect Physiol.*, 39(11): 903-924.
- RODRÍGUEZ H., C. & A. LAGUNES T., 1992. Plantas con Propiedades Insecticidas: Resultados de Pruebas Experimentales en Laboratorio, Campo y Granos Almacenados. *Agroproducción*, 1: 17-25.
- SCHMUTTERER, H., 1990. Properties and Potential of Natural Pesticides From the Neem Tree, *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology*, 35: 271-297.
- TANZUBIL, P.B. & A.R. McCAFFERY, 1990. Effects of Azadirachtin and Aqueous Neem Seed Extracts on Survival, Growth and Development of the African Armyworm, *Spodoptera exempta*. *Crop Protection*, 9: 383-386.
- XIE, Y.S.; M.B. ISMAN; P. GUNNING; S. MACKINNON; J.T. ARNASON; D.R. TAYLOR; P. SANCHEZ; C. HASBUN; G.H.N. TOWERS, 1994. Biological Activity of Extracts of *Trichilia* Species and the Limonoid Hirtin Against Lepidopteran Larvae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 22(2): 129-136.