

## OLFATÓMETRO SIMPLE PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE ALELOQUÍMICOS VEGETALES EN *Tribolium castaneum* HERBST (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)<sup>1</sup>

Dal Bello, G.<sup>2</sup>; Padín, S.<sup>3</sup>

Recibido: 21/01/06 Aprobado: 25/10/06

### RESUMEN

Se utilizó un método simple para evaluar la actividad biológica de extractos vegetales de *Lippia alba*, *Mentha x piperita*, *Ocimum basilicum*, *Quassia amara* y *Schinus molle*, en relación a la repelencia y mortalidad del carcoma castaño de la harina *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). La efectividad repelente de los derivados botánicos fue alta, alcanzando en conjunto 77-96 %. Los extractos aplicados sobre los granos de trigo resultaron levemente tóxicos y causaron 20-40 % de mortalidad a los 7 días del tratamiento.

**PALABRAS CLAVE:** *Tribolium castaneum*, insectidas vegetales, granos almacenados, olfatómetro.

### SUMMARY

## SIMPLE OLFACTOMETER TO EVALUATE THE INSECTICIDE ACTIVITY OF PLANT ALELOCHEMICALS ON *Tribolium castaneum* HERBST (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)

The biological activity of plant extracts derived from *Lippia alba*, *Mentha x piperita*, *Ocimum basilicum*, *Quassia amara* y *Schinus molle*, against the red flour beetle *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) was investigated in the laboratory using a simple method to determine insect repellency and toxicity. Botanicals were highly repellent to the beetles with overall effectivity in the range of 77-96 %. Extracts applied on wheat grains were slightly toxic to the insects and caused 20-40 % mortality after 7 days exposure.

**KEY WORDS:** *Tribolium castaneum*, botanical insecticides, stored grains, olfactometer.

Las estimaciones mundiales sobre pérdidas de granos almacenados por el daño que causan los insectos, son del 5 al 35 % (Boxall, 1991). Los perjuicios se deben a mermas en el peso, calidad, valor comercial y poder germinativo de las semillas, disminuyendo finalmente los volúmenes de exportación agrícola. A ese grupo de plagas pertenecen las especies del Género *Tribolium* (Coleoptera: Tenebrionidae), cuyas larvas y adultos se alimentan de granos partidos o lesionados por la infestación primaria,

harinas, polvillo de los granos, alimentos balanceados, frutas secas, etc. Además del daño directo, provocan olor y gusto desagradables a los productos que atacan. Uno de los tribolios más importantes y ampliamente distribuidos es *T. castaneum* Herbst o carcoma castaño de la harina, especie cosmopolita que infesta principalmente harinas y otros derivados de la molienda en depósitos, almacenes y silos. Las medidas de control convencionales se basan en la aplicación frecuente de fumigantes e insectidas químicas.

<sup>1</sup>Proyecto financiado por la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC).

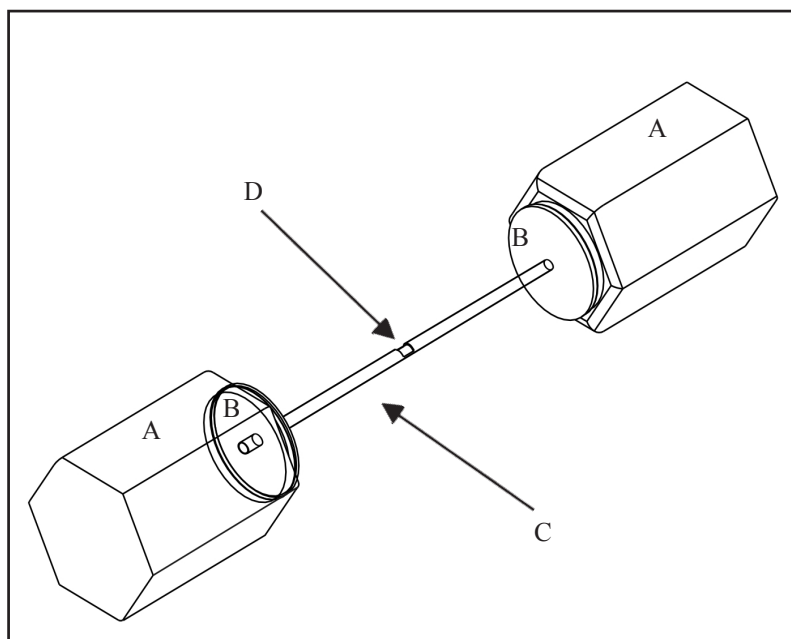
<sup>2</sup>Centro de Investigaciones en Fitopatología. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, calle 60 y 119, CC 31 (1900), La Plata, Argentina. E-mail: dalbello@speedy.com.ar

<sup>3</sup>Cátedra de Terapéutica Vegetal. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata.

cos residuales, que por su amplio espectro de acción eliminan no sólo a la plaga sino también a sus enemigos naturales. En el caso de los granos destinados a la alimentación, existen severas restricciones al uso de pesticidas impuestas por las normas de bioseguridad, además de las limitaciones toxicológicas y ambientales. Asimismo, la constante exposición a los tratamientos químicos, ha inducido a desarrollar resistencia en *T. castaneum* a diferentes grupos de insecticidas (Akbar *et al.*, 2004). Las tendencias actuales en el manejo integrado de plagas se orientan hacia la preservación del ambiente junto al uso de biocidas naturales (bioplaguicidas) con menor toxicidad. Entre esos productos se encuentran los aleloquímicos de origen vegetal, semioquímicos de comunicación química interespecífica (Flint *et al.*, 1996), que no generan fenómenos de resistencia ni ejercen el impacto ambiental de los insecticidas de síntesis, siendo compatibles con otras opciones de bajo riesgo aceptables en el control de insectos. Los aleloquímicos son metabolitos secundarios sintetizados por muchas plantas, que pueden actuar como atraerentes, estimulantes, toxinas, repelentes e inhibidores de la alimentación o de la oviposición. Algunos de ellos poseen propiedades biológicas aplicables a los coleópteros (Vilela y Castro, 1987; Jaffe *et al.*, 1993; Tripathi *et al.*, 2001), incluyendo *T. castaneum* (Mareggiani *et al.*, 2000; Tripathi *et al.*, 2001; Stefanazzi *et al.*, 2005). Dentro de los aleloquímicos más estudiados por su acción insectistática, se encuentran los compuestos volátiles. La gran abundancia de esas sustancias de bajo peso molecular en las plantas, ofrece excelentes perspectivas para su extracción,

identificación y uso como plaguicidas (Castañera Domínguez, 1998; Perales *et al.*, 2000). Para evaluar la efectividad de los aleloquímicos vegetales volátiles (toxicidad, repelencia, concentraciones efectivas, tiempo de exposición u otros tipos de estímulos) se realizan bioensayos utilizando diferentes dispositivos u olfatómetros, adaptados a una técnica en común: la libre elección de los insectos para dirigirse hacia la fuente aromática del semioquímico o al control. Los aparatos diseñados para este fin son costosos, o de complejo armado y manipulación (Cerda *et al.*, 1995; Cerda *et al.* 1996; Ramos Rodríguez, 2001; Nakamuta, *et al.*, 2004). Otros llevan piezas de fabricación especial o bien elementos simples como cajas de Petri (Obeng-Ofori and Reichmuth, 1997; Obeng-Ofori *et al.*, 1998), donde los individuos en un único espacio comparten la misma atmósfera, mezclándose los vapores e invalidando el ensayo. En este trabajo se propone el empleo de un olfatómetro simple para medir la actividad biológica de extractos vegetales volátiles sobre adultos de *T. castaneum* en granos almacenados.

Dos envases de vidrio hexagonales de 250 mL cada uno, se conectaron mediante un tubo de plástico de 30 x 1 cm de diámetro en los que se abrió una pequeña ventana de 1 x 1 cm equidistante a los dos recipientes. Los extremos del tubo se introdujeron ajustadamente a través de sendos orificios realizados en las tapas plásticas de los frascos. La zona de unión tubo-tapa fue sellada aplicando silicona termofusible en barra con pistola de calor, para evitar la fuga de gases (Figura 1). Dentro de cada recipiente se colocó 50 g de trigo partido, cantidad que asegura suficiente espacio libre entre los granos y los extremos del tubo para impedir el retorno de los insectos tras haber ingresado a los frascos. Sobre esa dieta fue aplicado en uno de los frascos, 1 mL de la solución del compuesto a evaluar o 1 mL del solvente para los tratamientos y controles respectivamente; los granos del segundo recipiente no fueron tratados (testigo en blanco). Los envases se cerraron herméticamente quedando apoyados por una de sus caras para evitar movimientos y asegurar la estabilidad de la estructura. Luego de aplicado el extracto, se incorporaron 20 adultos de *T. castaneum* con



**Figura 1.** Diagrama esquemático del olfatómetro. A : frascos de vidrio hexagonales (7.2 x 7 cm), B: tapas de plástico a rosca (6 cm de diámetro), C: tubo de plástico (30 x 1 cm), orificio (1 x 1 cm) de entrada para los insectos.

edades estandarizadas (15 días) en el centro del tubo a través del hueco central, que posteriormente fue tapado con cinta adhesiva. Los insectos se mantuvieron en cámara de cría climatizada, en el sistema descrito anteriormente, a 25-27 °C y 70-90 % de humedad relativa, con un período luz-oscuridad inverso de 12 h. Se registró el número de insectos en cada recipiente luego de 2 h y a los 7 días para determinar repelencia y mortalidad respectivamente. En el cómputo de insectos correspondientes a cada frasco también se incluyeron aquellos individuos ubicados en la mitad del tubo (15 cm) más próxima al mismo envase. Mediante esta evaluación olfatómetrica se pueden discriminar dos conductas: individuos que eligen la fuente aromática (atracción) y los que se alejan de ella (repelencia) dirigiéndose hacia los granos sin tratar. Para probar el funcionamiento del olfatómetro se ensayaron diferentes extractos vegetales seleccionados por sus antecedentes como insecticidas e insectistáticos (Padín *et al.*, 2000; Iannacone y Lamas, 2003) y obtenidos por arrastre con vapor de agua. Se efectuaron 5 repeticiones por tratamiento y controles empleando aceites esenciales de partes frescas de *Lippia alba* (Verbenaceae), *Mentha x piperita* (Labiatae), *Ocimum basilicum* (Labiatae) y *Schinus molle* (Anacardiaceae) y extracto metanólico de corteza y madera molidas de *Quassia amara* (Simaroubaceae). Los extractos se formularon a concentraciones del 2 y 5 % en solución acuosa de oleato de propilenglicol al 1 %. Este tensioactivo carece de efectos insecticidas sobre *T. castaneum* y permite obtener emulsiones estables. Como control se utilizó la solución acuosa de oleato de propilenglicol. Para cada tratamiento se registró el número de insectos presentes en los envases, transformándolo en porcentaje de repelencia y/o mortalidad. Los valores netos de repelencia obtenidos a las 2 h del tratamiento, variaron entre 61-77 % con *S. molle* al 5 %; 80-90 % con *Mentha x piperita* al 2 %; 80-92 % con *L. alba* al 5 %; 88-93 % con *Q. amara* al 5 % y 94-96 % con *O. basilicum* al 2 %. A los 7 días del tratamiento, el mayor rango de mortalidad referido al total de individuos colocados en cada olfatómetro fue del 20-40 % para *Mentha x piperita* al 5 %, mientras que el efecto letal del resto de los extractos alcanzó el 10-20 %. En los frascos control no se observaron insectos muertos.

Los resultados indican que con un dispositivo de fácil armado, ensamblando piezas comunes disponibles en la mayoría de los laboratorios, es posible evaluar con el mismo bioensayo la repelencia y mortalidad a insecticidas naturales de carcomas y gorgojos que atacan granos almacenados. El aparato es sencillo, barato y potencialmente útil para investigaciones de tipo "screening".

## BIBLIOGRAFÍA

- AKBAR, W.; LORD, J. C.; NECHOLS, J. R. & HOWARD, R. W. 2004. Diatomaceous earth increases the efficacy of *Beauveria bassiana* against *Tribolium castaneum* larvae and increases conidia attachment. *Journal of Economic Entomology* 97: 273-280.
- BOXALL, R. A. 1991. Post-harvest losses to insects: A world overview. In: *Biodeterioration and Biodegradation* 8. H.W. Rossmore, ed. Elsevier, London, UK.
- CASTAÑERA DOMÍNGUEZ, P. 1998. Protección natural de plantas contra plagas: metabolitos secundarios. Memorias del I Simposio Internacional y IV Nacional sobre Sustancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas. Acapulco, Guerrero, México.
- CERDA, H.; LÓPEZ, A.; SANOJA, O.; SÁNCHEZ, P. & JAFFE, K. 1995. Atracción olfativa de *Cosmopolites sordidus* Germar (1824) (Coleoptera: Curculionidae) estimulado por volátiles originados en musáceas de distintas edades y variedades genómicas. *Agronomía Tropical* 46:413-429.
- CERDA, H.; FERNÁNDEZ, G.; LÓPEZ, A. & VARGAS, J. 1996. Estudio de la atracción del gorgojo rayado *Metamasius hemiptenis* (Coleoptera: Curculionidae) a olores de su planta huésped y su feromona de agregación. *Caña de Azúcar* 14: 53-70.
- FLINT, H. M. & DOANE, C. C. 1996. Comprensión de los Semioquímicos con Énfasis en Feromonas Sexuales de los Insectos en Programas de manejo Integrado de Plagas. USDA-ARS-WCRL. <http://ipmworld.umn.edu/cancelado/Spchapters/FlintSP.htm>
- IANNACONE, J. O. & LAMAS, G. M. 2003. Efectos toxicológicos de extractos de molle (*Schinus molle*) y lantana (*Lantana camara*) sobre *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae), *Trichogramma pintoi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y *Copidosoma koehleri* (Hymenoptera: Encyrtidae) en el Perú. *Agricultura Técnica* 63: 347-360.
- JAFFE, K.; SÁNCHEZ, P.; CERDA, H.; URDANETA, N. & HERNÁNDEZ, J. V. 1993. Chemical ecology of the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera-Curculionidae): Attraction to host plants and to a male produced aggregation pheromone. *Journal of Chemical Ecology* 19:1703-1720.
- MAREGGIANI, G.; BADO, S.; PICOLLO, M. I. & ZERBA, E. 2000. Efecto tóxico de metabolitos aislados de plantas solanáceas sobre *Tribolium castaneum*. *Acta Toxicológica Argentina* 8: 69-71.
- NAKAMUTA, K.; VAN TOL, R. W. H. M. & VISSER, J. H. 2005. An olfactometer for analyzing olfactory responses of death-feigning insects. *Applied Entomology and Zoology* 40: 173-175.

- OBENG-OFORI, D. & REICHMUTH, C. H. 1997. Bioactivity of eugenol, a major component of essential oil of *Ocimum suave* (Wild.) against four species of stored-product Coleoptera. *International Journal of Pest Management* 43: 89-94.
- OBENG-OFORI, D.; REICHMUTH, C. H.; BEKELE, A. J. & HASSANALI, A. 1998. Toxicity and protectant potential of camphor, a major component of essential oil of *Ocimum kilimandscharicum*, against four stored product beetles. *International Journal of Pest Management* 44: 203-209.
- PADÍN, S.; RINGUELET, J.; DAL BELLO, G.; CERIMELE, E.; RÉ, M. & HENNING, C. 2000. Toxicology and Repellent Activity of Essential Oils on *Sitophilus oryzae* L. and *Tribolium castaneum* Herbst. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 7: 67-73.
- PERALES SEGOVIA, C.; SORIANO, S. & VALENCIA, L. 2000. Control de plagas de hortalizas y frutales con extractos vegetales comerciales. *Memorias del VI Simposio Nacional sobre Sustancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas*. Acapulco, Guerrero, México.
- RAMOS RODRÍGUEZ, O. 2001. *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. (Asteraceae) como repelente de *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Homoptera: Aleyrodidae) y de *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae). Tesis de grado, 2001, Universidad de Puerto Rico, Recinto universitario de Mayagüez.
- STEFANAZZI, N.; GUTIÉRREZ, M. M. & STADLER, T. 2005. Efecto del aceite esencial de *Tagetes terniflora* (Asteraceae) sobre la ingesta y nutrición de adultos de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Memorias del VI Congreso Argentino de Entomología*, Tucumán, Argentina.
- TRIPATHI, A. K.; PRAJAPATI, V.; AGGARWAL, K. K. & KUMAR, S. 2001. Toxicity, feeding deterrence, and effect of activity of 1,8 from *Artemisia annua* on progeny of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Economic Entomology* 94: 979-983.
- VILELA, F. E. & T. H. CASTRO. 1987. *Feromonios de insectos: biología, química e emprego no manejo de pragas*. Imprensa Universitaria, Universidad Federal de Viosa. Viosa, Minas Gerais, Brasil.