

Toxicidad de aceites esenciales de Verbenaceas sobre adultos de *Diuraphis noxia* (Hemiptera: Aphididae)

Carolina Sánchez Chopa*, Lilian R. Descamps.

Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, San Andrés 800 Altos Palihue, Bahía Blanca (8000) Buenos Aires, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: cschopa@uns.edu.ar

Resumen

Una de las especies de pulgones encontrada con mayor frecuencia en el cultivo de trigo en la región semiárida pampeana es *Diuraphis noxia* Kurdjumov. Generalmente, este áfido es controlado con insecticidas convencionales que generan desarrollo de resistencia, contaminación ambiental y eliminación de la entomofauna benéfica. Por lo tanto, es importante buscar métodos alternativos de control como los insecticidas de origen botánico. A partir de estos antecedentes el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto insecticida de los aceites esenciales de *Aloysia citriodora* y *A. polystachia* en adultos de *Diuraphis noxia* utilizando diferentes metodologías. Los aceites esenciales se obtuvieron mediante destilación por arrastre de vapor de agua en un aparato tipo Clevenger. El efecto insecticida de los aceites esenciales se evaluó utilizando el método de inmersión propuesto por la FAO, y la toxicidad por contacto se evaluó por el método de inmersión de hojas. Al evaluar la toxicidad por contacto a las 24 horas, la CL50 del aceite de *A. polystachia* (CL50 = 7,4 mg/ml), fue significativamente menor que la del aceite de *A. citriodora* (CL50 = 23,7mg/ml), y no se hallaron diferencias entre los aceites a las 48 horas. Al evaluar la toxicidad por inmersión a los 30 minutos, la CL50 del aceite de *A. polystachia* (CL50 = 0,06 mg/ml) fue significativamente menor que la del aceite de *A. citriodora* (CL50 = 0,55), no se encontraron diferencias significativas en la toxicidad a los sesenta minutos. Estos resultados indicarían que los aceites esenciales de ambas plantas se podrían considerar como una alternativa natural para el control *D. noxia*.

Toxicity of essential oils from Verbenaceae against *Diuraphis noxia* (Hemiptera: Aphididae) adults

Summary

Diuraphis noxia is one of the main pests in wheat in the semiarid Pampas of Argentina. Generally, this aphid is controlled with non-selective insecticides. Their massive use usually results in reduction of beneficial insects, pest resurgence, and leads to other environmental and human health damages. In order to avoid this problem, alternative control methods are proposed, as the phytochemical insecticides based on essential oils. The aim of this paper was to study the insecticide effect of the essential oils of *Aloysia citriodora*, and *A. polystachia* on *Diuraphis noxia* adults using different methodologies. Essential oils from leaves of *A. polystachya*, and *A. citriodora* were extracted using a Clevenger-type apparatus. Toxicity of essential oils was measured using the FAO dip test protocol and the leaf-dipping method. In contact toxicity, *A. polystachia* essential oil

Palabras clave: Pulgón ruso - toxicidad - aceites esenciales.

Key words: Russian wheat aphid - toxicity - essential oils.

was more toxic (LC50 = 7,4 mg/ml) to *D. noxia* in the first 24 hours than the essential oil of *A. citriodora* (LC50 = 23,7mg/ml). At 48 h after exposure, no significant differences between essential oils were observed. After 30 minutes, *A. polystachia* essential oil was more toxic (LC50 = 0,06 mg/ml) than *A. citriodora* oil (LC50= 0,55) in immersion method test. At 1 h after exposure, no significant differences were observed between the essential oils tested. Although the essential oil of *A. polystachia* was more effective than *A. citriodora* oil, both plants produced toxicity against *D. noxia* adults. These results showed that the essential oils from *A. polystachia*, and *A. citriodora* could be used as an alternative in the management of *D. noxia*.

Introducción

Las plagas constituyen la principal limitante de la producción agrícola. Cada año, una tercera parte de la producción mundial de alimentos se pierde debido a la acción de insectos, ácaros, nematodos, caracoles, aves y roedores (Medina y col., 2001). Los insectos causan alrededor del 15 % de estas pérdidas en la producción destinada a la alimentación (Escobar y col., 2004). Desde el punto de vista agronómico, los áfidos representan uno de los grupos de insectos perjudiciales más importantes debido a sus características biológicas e impacto económico (Dixon, 1987; Dixon y Kundu, 1994; Lushai y col., 2003; Delfino, 2005; Kaloshian y Walling, 2005). *Diuraphis noxia* Kurdjumov (“pulgón ruso del trigo”) es una de las especies de pulgones más comúnmente encontrada en el cultivo de cereales invernales en el mundo y en la región semiárida pampeana de la Argentina (Basky, 2003; Clúa y col., 2004; Kerzicnik y col., 2010). Este pulgón no solo puede producir pérdidas en trigo de entre el 35 % y el 40 % en el rinde (Kieckhefer y Gellner, 1992), sino que además, actúa como vector de varios virus, entre los que se encuentra el “virus del enanismo amarillo de la cebada” (BYDV) (Širlová, 2004) y el virus del mosaico de la cebada (BSMV), entre otros (Damsteeg y col., 1992; Kazemi y col., 2001). Actualmente, las medidas de control de esta plaga se basan en la aplicación de insecticidas químicos sistémicos (Imwinkelried y col., 2004).

Sin embargo, existe una creciente preocupación por su uso, ya que han ocasionado efectos adversos al medio ambiente, a la salud humana y perjudicado la supervivencia y la reproducción de los controladores biológicos y de los polinizadores (Das y col., 2008; Birch y col., 2011).

El conocimiento creciente de estos efectos negativos y la necesidad de elevar, tanto los rendimientos como la calidad fitosanitaria de los cereales y sus derivados, conduce al desarrollo e implementación

de diferentes estrategias de control. En la actualidad, los aceites esenciales derivados de las plantas son una alternativa interesante al uso de insecticidas sintéticos por su alta selectividad, baja persistencia ambiental y baja toxicidad en mamíferos y otras plantas (Katz y col., 2008).

Además, debido a los múltiples blancos sobre los cuales los aceites esenciales pueden actuar, y a la complejidad de su composición química, la resistencia a estos productos en insectos se desarrolla mucho más lentamente que con los insecticidas químicos (Tripathi y col., 2009; Rattan, 2010).

Aloysia polystachya Griseb. y Moldenke (“poleo de Castilla”) y *Aloysia citriodora* Palau, (“cedrón”) son dos especies de Verbenáceas que se distribuyen en América Central y Sudamérica (Pascual y col., 2001). *A. polystachya* es una planta medicinal ampliamente utilizada como sedante, antiemético, para la dispepsia, la gastritis y para atenuar trastornos del tracto respiratorio (Scarpa, 2004; Mora y col., 2005). *A. citriodora* tiene acción antiespasmódica, eupéptica, carminativa, digestiva, diurética, antimicrobiana y analgésica local (Ragone y col., 2010; Ricciardi y col., 2011).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto insecticida de los aceites esenciales de *A. polystachya* y de *A. citriodora* en adultos de *D. noxia* por medio de diferentes técnicas de laboratorio.

Materiales y métodos

Insectos

Los áfidos se obtuvieron de una colonia mantenida en condiciones controladas de temperatura y humedad relativas (24 ± 1 °C y 65 ± 10 % HR) y un fotoperíodo 12:12 (L:O) en el laboratorio de Zoología Agrícola, Dpto. de Agronomía de la UNS.

Plantas

Las semillas de trigo fueron provistas por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA-Bordenave) y se sembraron en macetas de 10 cm de diámetro con suelo fertilizado a tasas comerciales (*Soil Survey Staff*, 1999). Las plantas se mantuvieron bajo condiciones controladas de temperatura y humedad (24 ± 1 °C y 65 ± 10 % HR) y fotoperíodo 14:10 (L:O).

Obtención de los aceites esenciales

Los aceites esenciales de *A. polystachya* y de *A. citriodora* se aislaron a partir de material vegetal fresco, por destilación por arrastre de vapor de agua en un aparato tipo Clevenger durante 3 a 4 horas.

Bioensayos

En todos los ensayos las soluciones de los aceites esenciales se prepararon disolviéndolos en 1 ml de una solución de etanol y Tween 20 % (0,012:10).

Toxicidad por contacto

Se evaluó mediante el método propuesto por Roditakis y col. (2005) con ciertas modificaciones. Trozos de hoja de trigo (1 cm²) se sumergieron durante 10 segundos en diferentes soluciones de los aceites esenciales. Como control se sumergieron hojas de trigo en agua destilada que contenía una solución de etanol y Tween 20 % (0,012:10). Las hojas tratadas se dejaron secar durante 1 hora a temperatura controlada y se colocaron en cajas de Petri (5 cm de diámetro) con 2 - 3 ml de agar al 1 % selladas en la parte superior con tela antiáfidos.

Sobre las hojas tratadas se colocaron 10 áfidos adultos. La mortalidad se registró a las 24 y 48 horas. Se trabajó con ocho concentraciones de cada aceite y se realizaron tres réplicas por aceite y por concentración.

Se determinaron los valores de concentración letal 50 % (CL50) con sus respectivos intervalos de confianza del 95 % (IC95) mediante el programa Microprobit 3.0.

Toxicidad por inmersión

Se evaluó según el método propuesto por la FAO (1979). Se dispusieron 10 áfidos adultos en el interior de un cilindro de vidrio (20-25 mm de diámetro x 30 mm de altura) cuyo fondo estaba cubierto con una gasa, asegurada con una banda elástica. Este cilindro se sumergió en una cubeta poco profunda que contenía 2 ml de las soluciones de los aceites esenciales.

Después de 10 segundos de contacto, los pulgones fueron secados parcialmente con papel de filtro y puestos sobre trozos de hojas. Se registró la mortalidad a los 30 y 60 minutos posteriores al tratamiento.

Se trabajó con ocho concentraciones de cada aceite y se realizaron tres réplicas por aceite y por concentración. Se determinaron valores de concentración letal 50 % (CL50) con sus respectivos intervalos de confianza del 95 % (IC95) mediante el programa Microprobit 3.0.

Resultados

Al evaluar la toxicidad por contacto se observó que la mortalidad fue afectada por el tiempo transcurrido luego del tratamiento (Tabla 1).

Tabla 1.- Toxicidad por contacto de los aceites esenciales de *A. citriodora* y de *A. polystachya* sobre adultos de *D. noxia*

Insecto	Aceites esenciales	CL ₅₀ (mg ml ⁻¹)	
		24 h	48 h
<i>Diuraphis noxia</i>	<i>A. citriodora</i>	23,7 (12,1 - 69,9) b	9,1 (4,7 - 14,1) a
	<i>A. polystachya</i>	7,4 (4,9 - 10,1) a	5,9 (3,6 - 8,1) a

CL50: concentración letal 50; intervalo de confianza del 95 % se muestra entre paréntesis. Valores de CL50 seguidos por la misma letra dentro de cada columna no difieren significativamente.

Tabla 2.- Toxicidad por inmersión de aceites esenciales de *A. polystachya* y de *A. citriodora* sobre adultos de *D. noxia*

Insecto	Aceites esenciales	CL ₅₀ (mg ml ⁻¹)	
		30 min	60 min
<i>Diuraphis noxia</i>	<i>A. citriodora</i>	0,55 (0,085 - 1,42) b	0,109 (0,02 - 0,21) a
	<i>A. polystachya</i>	0,06 (0,004 - 0,16) a	0,038 (0,002 - 0,099) a

CL50: concentración letal 50; intervalo de confianza del 95 % se muestra entre paréntesis. Valores de CL50 seguidos por la misma letra dentro de cada columna no difieren significativamente.

Durante las primeras 24 horas, el aceite esencial de *A. polystachya* fue significativamente más tóxico para *D. noxia* que el aceite esencial de *A. citriodora* ($p < 0,05$) (Tabla 1). A las 48 horas luego del tratamiento no se hallaron diferencias significativas entre los aceites esenciales; sin embargo, el aceite esencial de *A. polystachya* continuó siendo más tóxico (Tabla 1).

En la tabla 2 se presenta la toxicidad por inmersión de los dos aceites esenciales evaluados. El aceite de *A. polystachya* generó a los 30 minutos mayor actividad insecticida que el aceite de *A. citriodora*; se encontraron diferencias significativas entre ambos ($p < 0,05$). A los 60 minutos, el aceite esencial de *A. polystachya* resultó más tóxico que el aceite de *A. citriodora*, aunque la diferencia entre ambos no fue significativa ($p > 0,05$) (Tabla 2).

Discusión y conclusión

La actividad biológica de los aceites esenciales demostrada en este trabajo prueba que son una fuente de compuestos activos que podrían actuar eficientemente como aficidas. Los aceites esenciales de *A. polystachya* y de *A. citriodora* produjeron toxicidad por contacto y por inmersión en adultos de *D. noxia*, efecto que indicaría que la penetración del compuesto biocida se realizaría a través del tegumento o a través del sistema digestivo (Prates y col., 1998; Ibrahim y col., 2008).

El aceite esencial de *A. polystachya* resultó más efectivo en el control de esta plaga. Esta acción podría estar relacionada con la actividad biológica o con la estructura de los componentes principales del aceite.

Varios autores han demostrado que el aceite esencial de *A. polystachya* y la carvona, su componente mayoritario, han producido toxicidad en adultos de *Rhizopertha dominica* (Benzi y col., 2009); *Sitophilus oryzae*, *Cryptolestes pusillus* (López Belchí, 2008) y *Pediculus humanus capitis* (Tolosa y col., 2006).

Debido a que estos aceites tienen propiedades medicinales, su uso en el control de plagas sería una alternativa menos perjudicial para la salud humana y el medio ambiente que los insecticidas de síntesis (Isman, 2006).

Los aceites esenciales de *Aloysia polystachya* y de *Aloysia citriodora* podrían utilizarse como alternativas al uso de insecticidas sintéticos en el control de *Diuraphis noxia*.

Referencias bibliográficas

- Basky, Z. (2003). "Biotypic and pest status differences between Hungarian and South African populations of Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Kurdjumov) (Homoptera: Aphididae)". *Pest Management Science* 59: 1152-1158.
- Benzi, V.; Sánchez Chopa, C.; Ferrero, A.A. (2009). "Comparación del efecto insecticida de dos especies de *Aloysia* (Verbenaceae) sobre *Rhizopertha dominica* (Insecta, Coleoptera, Bostrichidae)". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 8(2): 151-153.
- Birch, A.N.E.; Begg, G.S.; Squire, G.R. (2011). "How agro-ecological research helps to address food security issues under new IPM and pesticide reduction policies for global crop production Systems". *Journal of Experimental Botany* 62(10): 3251-3261.

- Clúa, A.A.; Castro, A.M.; Ramos, S.; Giménez, D.O.; Vasicek, A.; Chidichimo, H.O.; Dixon, A.F.G. (2004). "The biological characteristics and distribution of the greenbug *Schizaphis graminum* and Russian wheat aphid *Diuraphis noxia* (Hem: Aphididae) in Argentina and Chile". *European Journal of Entomology* 101: 193-198.
- Damsteegt, V.D.; Gildow, F.E.; Hewings, A.D.; Carroll, T.W. (1992). "A clone of the Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) as a vector of barley yellow dwarf, barley stripe mosaic, and brome mosaic viruses". *Plant disease* 76(11): 1155-1160.
- Das, B.C.; Sarker, P.K.; Rahman, M.M. (2008). "Aphidicidal activity of some indigenous plant extracts against bean aphid *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae)". *Journal of Pest Science* 81: 153-159.
- Delfino, M.A. (2005). "Inventario de las asociaciones áfido-planta en el Perú". *Ecología Aplicada* 4(1,2): 143-148.
- Dixon, A.F.G. (1987) "Parthenogenetic reproduction and the rate increase in aphids" en: Minks, A.K.; Harrewijn, P. (eds) *Aphids, their Biology, Natural Enemies and Control* Cap 2. Elsevier, Amsterdam: 269-287.
- Dixon, A.; Kundu, R. (1994). "Ecology of host alternation in aphids". *European Journal of Entomology* 91: 63-70.
- Escobar, J.M.; Pardo, M.E.; Buitrago, G.; López, L.A. (2004). "Análisis exploratorio para la optimización de un medio de cultivo para la fermentación de *Bacillus thuringiensis*". *Revista Colombiana de Biotecnología* VI: 44.
- FAO (1979). "Métodos recomendados para la detección y medición de la resistencia de las plagas a los plaguicidas. Método para áfidos adultos". *Boletín Fitosanitario FAO* 27: 29-39.
- Ibrahim, M.A.; Kainulainen, P.; Aflatuni, A. (2008). "Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: with special reference to limonene and its suitability for control of insect pests". *Agricultural and Food Science* 10(3): 243-259.
- Imwinkelried, J.M.; Fava, F.D.; Trumper, E.V. (2004). "Pulgones que Atacan al Cultivo de Trigo". *Boletín N° 7, Ediciones INTA*: 6.
- Isman, M.B. (2006). "Botanical insecticide deterrents and repellents in modern agriculture and increasingly regulated world". *Annual Reviews of Entomology* 51: 45-66.
- Kaloshian, I.; Walling, L. (2005). "Hemipterans as plant pathogens". *Annual Review of Phytopathology* 43: 491-521.
- Katz, T.M.; Moller, J.H.; Hebert, A.A. (2008). "Insect repellents: historical perspectives and new developments". *Journal of the American Academy of Dermatology* 58: 865-871.
- Kazemi, M.H.; Talebi-Chaichi, P.; Shakiba, M.R.; Jafarloo, M.M. (2001). "Biological Responses of Russian Wheat Aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Homoptera: Aphididae) to Different Wheat Varieties". *Journal of Agricultural Science* 3: 249-255.
- Kerzicnik, L.M.; Peairs, F.B.; Harwood, J.D. (2010). "Implications of Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia*, falling rates for biological control in resistant and susceptible winter wheat". *Arthropod-Plant Interactions* 4(2): 129-138.
- Kieckhefer, R.W.; Gellner, J.L. (1992). "Yield losses in winter wheat caused by low-density cereal aphid populations". *Agronomy Journal* 84(2): 180-183.
- López Belchí, M.D. (2008). "Toxicidad volátil de monoterpenoides y mecanismos bioquímicos en insectos plaga del arroz almacenado". Tesis Doctoral, Universidad de Murcia, Murcia, España, 230 pp.
- Lushai, G.; Loxdale, H.D.; Allen, J.A. (2003). "The dynamic clonal genome and its adaptive potential". *Biological Journal of the Linnean Society* 79: 193-200.
- Medina, C.A.; Lopera, A.; Vitolo, A.; Gill, B. (2001). "Escarabajos coprófagos (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae) de Colombia". *Biota Colombiana* 2: 131-144.
- Mora, S.; Díaz-Véliz, G.; Millán, R.; Lungenstrass, H.; Quirós, S.; Coto-Morales, T.; Hellión-Ibarrola, M.C. (2005). "Anxiolytic and antidepressant-like effects of the hydroalcoholic extract from *Aloysia polystachya* in rats". *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 82(2): 373-378.
- Pascual, M.E.; Slowing, K.; Carretero, E.; Sánchez Mata, D.; Villar, A. (2001). "*Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review". *Journal of Ethnopharmacology* 76(3): 201-214.
- Prates, H.T.; Santos, J.P.; Waquil, J.M.; Fabris, J.D.; Oliveira, A.B.; Foster, J.E. (1998). "Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbst)".

- Journal of Stored Products Research* 34(4): 243-249.
- Ragone, M.I.; Sella, M.; Pastore, A.; Consolini, A.E. (2010). "Sedative and Cardiovascular Effects of *Aloysia citriodora* Palau, on Mice and Rats". *Latin American Journal of Pharmacy* 29(1): 79-86.
- Rattan, R.S. (2010). "Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin". *Crop Protection* 29: 913-920.
- Ricciardi, G.; Torres, A.M.; Bubenik, A.L.; Ricciardi, A.; Lorenzo, D.; Dellacassa, E. (2011). "Environmental effect on essential oil composition of *Aloysia citriodora* from Corrientes (Argentina)". *Natural Product Communications* 6(11): 1711-1714.
- Roditakis, E.; Roditakis, N.E.; Tsagkarakou, A. (2005). "Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Crete". *Pest Management Science* 61: 577-582.
- Scarpa, G.F. (2004). "Medicinal plants used by the Criollos of Northwestern Argentine Chaco". *Journal of Ethnopharmacology* 91: 115-135.
- Širlová, L. (2004). "Study on the transmissibility of Barley yellow dwarf virus, PAV strain by the Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*)". *Acta Fytotechnica et Zootechnica* 7: 279-281.
- Soil Survey Staff. (1999). Soil taxonomy. 2^a ed. USDA Agriculture Handbook N° 436: 869.
- Tolosa, A.C.; Zygadlo, J.; Cueto, G.M.; Biurrun, F.; Zerba, E.; Picollo, M.I. (2006). "Fumigant and repellent properties of essential oils and component compounds against permethrin-resistant *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from Argentina". *Journal of Medical Entomology* 43(5): 889-895.
- Tripathi, A.K.; Upadhyay, S.; Bhuiyan, M.; Bhattacharya, P.R. (2009). "A review of essential oils as biopesticide in insect-pest management". *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* 1: 52-63.