

Actividad repelente del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae) y *Mentha x piperita* L. (Lamiaceae) en *Acyrtosiphon pisum* Harris (Hemiptera: Aphididae)

Lilian R. Descamps, Jorge A. J. Bizet Turovsky, Carlos M. Brustle, Carolina Sánchez Chopa*

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

En la región semiárida pampeana *Acyrtosiphon pisum* Harris afecta la implantación de las pasturas de alfalfa reduciendo el stand de plantas. La principal forma de control es por medio de insecticidas sintéticos. En distintas partes del mundo el uso desmedido de los mismos ha favorecido el desarrollo de individuos resistentes. Un nuevo enfoque de manejo en la actualidad es el uso de aceites esenciales que presentan múltiples sitios de acción. Los aceites esenciales están constituidos principalmente por monoterpenos, alcoholes, ésteres y fenoles y pueden actuar como insecticidas, atrayentes, repelentes y/o disuasorios de la alimentación. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto repelente de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Mentha x piperita* en adultos de *A. pisum*. Hojas de alfalfa se sumergieron durante 10 segundos en diferentes soluciones de los aceites esenciales. Las hojas se dejaron secar durante 1 hora a temperatura controlada. Se colocaron dos hojas en forma alterna, una tratada con la solución del aceite esencial y otra tratada con el emulsificante solo. En el centro se liberaron 10 adultos. Se realizaron tres réplicas por concentración. El número de áfidos presentes sobre las hojas se registró a las 24 horas y 48 horas. Se calculó un índice de repelencia (IR) = $C/(C+T)$, donde C es el número de áfidos en las hojas control y T es el número de áfidos en las hojas tratadas. Los resultados fueron analizados mediante ANOVA y test de diferencias mínimas significativas (DMS $p < 0,05$). A las 24 horas ambos aceites esenciales resultaron repelentes a las concentraciones de 7 y 3,5 % p/v. A las 48 horas el aceite esencial de *M. x piperita* mantuvo la repelencia para ambas concentraciones mientras que el aceite de *E. globulus* solo registró repelencia para la concentración del 7 % p/v. Estos resultados indicarían que los aceites esenciales de *Mentha x piperita* y *Eucalyptus globulus* podrían ser utilizados como repelentes de *Acyrtosiphon pisum* durante la implantación de la pastura de alfalfa.

Repellent activity of *Eucalyptus globulus* Labill (Myrtaceae) and *Mentha x piperita* L. (Lamiaceae) essential oils against *Acyrtosiphon pisum* Harris (Hemiptera: Aphididae)

Summary

In semiarid Pampa's of Argentine, *Acyrtosiphon pisum* Harris affects seedlings of alfalfa reducing the stand of plants. This pest is controlled with synthetic insecticides. Frequent and often excessive of chemical application had resulted in the development of resistant individuals. Therefore, an ecofriendly approach, using essential oils is an alternative in the control of *A. pisum*. Essential oils are composed of monoterpenes, alcohols, esters and phenols. They possess insecticide and repellent properties, and deterrent effects on feeding behavior against insect pests. The aim of this paper was to study the repellent effect of the essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Mentha x piperita* on *A. pisum* adults. Deterrent activity was assessed using leaf choice tests. Excised alfalfa leaves were dipped for 10 s in essential oil emulsions. To evaluate repellency an experimental arena consisted of two leaves, one treated with the test solution and one dipped in the control solution was used. Ten adult aphids were released in the center of the experimental arena. Three replicates were prepared for each treatment. After 24 h and 48 h, the number of aphids on each leaf was recorded. The deterency index (DI) was calculated as $C/(C+T)$, where C is the number of aphids on control leaves and T is the number of aphids on treated leaves. Data were analysed by ANOVA and Fisher's PLSD test. At 24 h essential oils of *E. globulus* and *M. piperita* showed deterrent effect at the highest concentrations ($p < 0.05$). At 48 h after treatment, *M. x piperita* was repellent at concentrations of 7 % w/v and 3,5 % w/v ($P < 0.05$). *E. globulus* show repellent at 7 % (w/v) but no repellence was found at 3,5 % (w/v). These results would indicate that the essential oils of *Mentha x piperita* and *Eucalyptus globulus* could be used as repellents for seedling protection in the presence of *Acyrtosiphon pisum*.

Palabras clave: pulgón verde de la alfalfa - aceites esenciales - repelencia.

Key words: pea aphid - essential oils - repellency.

Introducción

Acyrtosiphon pisum Harris (Hemiptera: Aphididae), pulgón verde de las leguminosas, es una importante plaga de las pasturas de alfalfa, *Medicago sativa* L. (Leguminosae). Esta especie es cosmopolita y específica de la familia Fabaceae (Blackman y Eastop, 2000). El áfido al alimentarse del floema provoca muerte de plántulas, clorosis, abscisión foliar, marchitamiento, retraso del crecimiento y disminución de la floración y de la producción de semillas (Soroka y Otani, 2011). Los daños ocasionados en la alfalfa son proporcionales al nivel y a la duración de la infestación (Aragón e Imwinkelried, 2007). A fin de disminuir la población de este áfido, de manera recurrente, se utilizan insecticidas sintéticos. Esta forma de control tienen efectos negativos sobre los seres humanos y el medio ambiente y además promueve el desarrollo de resistencia (Aragón e Imwinkelried, 2007; Stout, 2013). En los últimos años, se han evaluado distintas alternativas dentro de un manejo de plagas, integrando el control cultural, el biológico y el natural, entre otros (Chandrashekharaiah y Sannaveerappanavar, 2013). Una de las opciones dentro de este sistema de manejo es el uso de aceites derivados de plantas (Isman, 2000). Los aceites esenciales son mezclas altamente complejas formadas mayoritariamente por terpenoides, fenoles aromáticos y cetonas (Isman y Machial, 2006; Batishy y col., 2008). La naturaleza lipofílica de estos compuestos determina su actividad insecticida y acaricida (Isman, 2000; Avello y col., 2016). *Eucalyptus globulus* Labill. es una especie nativa de Australia y Tasmania, está ampliamente cultivada en todo el mundo y pertenece a la familia Myrtaceae. Su aceite se utiliza para el tratamiento de bronquitis, asma, enfermedades de los senos frontales, fiebre, gripe, ronquera, escarlatina, sarampión y como antiséptico intestinal (Fleming, 2000; Khan y Abourashed, 2011). La especie *Mentha x piperita* L. es un híbrido entre *M. aquatica* L. y *M. spicata* L. perteneciente a la familia Lamiales. El aceite de *M. x piperita* posee actividad antiséptica, anestésica, estimulante y antiespasmódica. Es utilizado en la medicina tradicional para aliviar trastornos asociados al sistema digestivo y respiratorio (Muñoz López de Bustamante, 1996; Fleming, 2000; Arango Mejía, 2006; Khan y Abourashed, 2011). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto repelente de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y de *Mentha x piperita* en adultos de *A. pisum*.

Materiales y métodos

Áfidos

En todos los experimentos se usaron individuos obtenidos de colonias mantenidas en condiciones controladas de temperatura y humedad relativa (24 ± 1 °C y 65 ± 10 %

HR) y fotoperiodo 12:12 (L:O) en el laboratorio de Zoología Agrícola, Dpto. de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur (UNS).

Plantas

Las semillas del cultivar Monarca fueron provistas por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA-Red Alfalfa) y se sembraron individualmente 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 fotoperiodo 14:10 (L:O).

Ensayo de repelencia

En el ensayo de repelencia, hojas de alfalfa se sumergieron durante 10 segundos en diferentes soluciones de los aceites esenciales. Las hojas se dejaron secar durante 1 hora a temperatura controlada. Se colocaron dos hojas en forma alterna, una tratada con la solución del aceite esencial y otra tratada con el emulsificante Tween 20. En el centro se liberaron 10 adultos. Se realizaron tres réplicas por concentración. El número de áfidos presentes sobre las hojas se registró a las 24 horas y 48 horas. Se calculó un índice de repelencia (IR) = $C/(C+T)$, donde C es el número de áfidos en las hojas control y T es el número de áfidos en las hojas tratadas. Los resultados fueron analizados mediante ANOVA y test de diferencias mínimas significativas (DMS $p < 0,05$).

Resultados

A las 24 horas, los aceites esenciales de *M. x piperita* y *E. globulus* resultaron repelentes a las concentraciones de 7 y 3,5 % p/v ($p < 0,05$). A la menor concentración evaluada ambos aceites resultaron neutros (Tabla 1).

A las 48 horas, el aceite esencial de *M. x piperita* mantuvo la repelencia para las concentraciones de 7 y 3,5 % p/v. El aceite esencial de *E. globulus* solo fue repelente a la concentración del 7 % p/v ($p < 0,05$) (Tabla 2).

Discusión y conclusión

Varios estudios han demostrado que la localización y el comportamiento de selección de las plantas huéspedes por los áfidos está determinada por los compuestos volátiles de las plantas (Hori, 1999). Sin embargo, insectos plaga podrían ser repelidos por sustancias volátiles presentes en plantas no hospederas (Visser y col, 1995, 1996).

Tabla 1.- Actividad repelente de los aceites de *E. globulus* y *M. x piperita* a las 24 horas sobre *A. pisum*

Aceite	Concentración % p/v	IR ± ES	Actividad biológica
<i>Eucalyptus globulus</i>	7,00	0,85 ± 0,03 ^a	Repelente
	3,50	0,64 ± 0,03 ^b	Repelente
	1,75	0,61 ± 0,01 ^{bc}	Neutro
	0	0,50 ± 0,05 ^c	Neutro
<i>Mentha x piperita</i>	7,00	0,89 ± 0,06 ^a	Repelente
	3,50	0,62 ± 0,03 ^b	Repelente
	1,75	0,48 ± 0,02 ^c	Neutro
	0	0,48 ± 0,04 ^c	Neutro

IR: Índice de repelencia; ES: Error estándar. Valores seguidos por la misma letra dentro de la columna no difieren significativamente (DMS, $p > 0,05$).

Tabla 2.- Actividad repelente de los aceites de *E. globulus* y *M. x piperita* a las 48 horas sobre *A. pisum*

Aceite	Concentración % p/v	IR ± ES	Actividad biológica
<i>Eucalyptus globulus</i>	7,00	0,92 ± 0,04 ^a	Repelente
	3,50	0,64 ± 0,01 ^b	Neutro
	1,75	0,51 ± 0,04 ^b	Neutro
	0	0,50 ± 0,07 ^b	Neutro
<i>Mentha x piperita</i>	7,00	0,90 ± 0,06 ^a	Repelente
	3,50	0,81 ± 0,04 ^a	Repelente
	1,75	0,50 ± 0,12 ^b	Neutro
	0	0,50 ± 0,07 ^b	Neutro

IR: Índice de repelencia; ES: Error estándar. Valores seguidos por la misma letra dentro de la columna no difieren significativamente (DMS, $p > 0,05$).

Los aceites esenciales poseen compuestos volátiles que pueden enmascarar la atracción de las plantas huéspedes (Hori y Komatsu, 1997; Gabrysy col., 2005).

El efecto repelente observado en este trabajo, podría deberse a la acción de los compuestos volátiles presentes en los evaluados sobre las rhinarias secundarias localizadas en las antenas de los áfidos (Picketty col., 1992; Pickett y Khan, 2016). En otros estudios, el aceite esencial de *M. x piperita* ha demostrado tener actividad repelente sobre *Myzus persicae* (Hori, 1998). El compuesto 1,8 cineol, principal constituyente del aceite de *E. globulus* posee actividad repelente en *Aphis gossypii*, *Neotoxoptera formosana* y *M. persicae* (Hori y Komatsu, 1997). La disminución del índice de repelencia observado en el aceite esencial de *E. globulus* podría deberse al bajo peso molecular o a la alta volatilidad del aceite esencial, lo que genera una rápida disminución de esta actividad (Sánchez Chopa y Descamps, 2011).

Los resultados del presente trabajo indicarían que los aceites esenciales de *Mentha x piperita* y *Eucalyptus globulus* podrían ser utilizados como repelentes del áfido *Acyrtosiphon pisum* durante la implantación de la pastura de alfalfa.

Referencias bibliográficas

Aragón, J.; Imwinkelried, J. (2007). "Manejo integrado de plagas de la alfalfa" en Basigalup, D.H. (ed) *El cultivo de la alfalfa en Argentina* Cap 9. Inta: 165-226.

Arango Mejía, M. (2006). *Plantas Medicinales: Botánica de interés médico*. Artes Gráficas Tizán, Manizales: 426.

Avello, M.; Fernández, P.; Fernández, M.; Schulz, B.; De Diego, M.; Mennickent, S.; Novoa, P.; Pastene, E. (2016). "Efecto pediculicida de una formulación en base a *Eucalyptus globulus* L." *Re-*

vista Chilena de Infectología 33 (4): 433-437.

Batish, D.R.; Singh, H.P.; Kohli, R.K.; Kaur, S. (2008). "Eucalyptus essential oil as a natural pesticide". *Forest Ecology and Management* 256(12): 2166-2174.

Blackman, R.L.; Eastop, V.F. (2000). *Aphids on the world's crops. An identification and information guide*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, UK.

Chandrashekharaiah, M., Sannaveerappanavar, V.T. (2013). "Biological activity of select plant and indigenous extracts against diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) and cowpea aphid, *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae)". *Current Biotica* 7(3): 134-144.

Fleming, T. (2000). *PDR for herbal medicines* 2º ed. Medical Economics Company, Inc. at Montvale, Nueva Jersey: 858

Gabryś, B.; Dancewicz, K.; Halarewicz-Pacan, A.; Janusz, E. (2005). "Effect of natural monoterpenes on the behaviour of the peach potato aphid *Myzus persicae* (Sulz.)". *Breeding for Resistance to Diseases and Insect Pests, IOBC WPRS Bulletin* 28 (10): 29-34.

Hori, M. (1998). "Repellency of rosemary oil against *Myzus persicae* in a laboratory and in a greenhouse". *Journal of Chemical Ecology* 24 (9): 1425-1432.

Hori, M. (1999). "The effects of rosemary and ginger oils on the alighting behavior of *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) and on the incidence of yellow spotted streak". *Applied Entomology and Zoology* 34 (3): 351-358.

Hori, M.; Komatsu, H. (1997). "Repellency of rosemary oil and its components against the onion aphid, *Neotoxoptera formosana* (Takahashi) (Homoptera, Aphididae)". *Applied Entomology and Zoology* 32 (2): 303-310.

Isman, M. (2000). "Plant essential oils for pest and disease management". *Crop Protection* 19 (8): 603-608.

Isman, M.; Machial, C. (2006). "Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization" en

- Rai, M.; Carpinella M.C. (eds) *Advances in phytomedicine, Naturally Occurring Bioactive Compounds*, Cap 2. Elsevier B.V. Amsterdam: 29-44
- Khan, I.A.; Abourashed, E.A. (2011). *Leung's encyclopedia of common natural ingredients: used in food, drugs and cosmetics*, (3^o ed). John Wiley & Sons, Inc., Nueva Jersey: 810.
- Pickett, J.A.; Khan, Z.R. (2016). "Plant volatile - mediated signaling and its application in agriculture: successes and challenges". *New Phytologist* 212 (4): 856-870.
- Muñoz López de Bustamante, F. (1996). *Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado*. Mundi-Prensa Libros, Madrid: 369.
- Pickett, J.A.; Wadhams, L.J.; Woodcock, C. M., Hardie, J. (1992). "The chemical ecology of aphids". *Annual Review of Entomology* 37 (1): 67-90.
- Sánchez Chopa, C.; Descamps, L.R. (2012). "Composition and biological activity of essential oils against *Metopolophium dirhodum* (Hemiptera: Aphididae) cereal crop pest". *Pest Management Science* 68 (11): 1492-1500.
- Soil Survey Staff. (1999). *Soil Taxonomy: A Basic System of Soil Classification for Making and Interpreting Soil Surveys*. (2^o ed). USDA, Washington: 869
- Soroka J.; Otani, J. (2011). "Arthropods of Legume Forage Crops" en Floate, K.D. (ed) *Arthropods of Canadian Grasslands (Volume 2): Inhabitants of a Changing Landscape* Cap 10. K. D. Biological Survey of Canada. Ottawa: 239-264.
- Visser, J.H.; Fu-shun, V. (1995). "Electroantennogram responses of the grain aphids *Sitobion avenae* F. and *Metopolophium dirhodum* Walk. (Hom., Aphididae) to plant odour components". *Journal of Applied Entomology* 119 (1-4):539-542.
- Visser, J.H.; Piron, P.G.M.; Hardie J. (1996). "The aphids' peripheral perception of plant volatiles". *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80 (1): 35-38.