



**Universidad de Concepción**

Dirección de Postgrado

Facultad de Agronomía-Programa de Magíster en Ciencias Agronómicas

**Variación estacional de las propiedades insecticidas e insectistáticas de los aceites esenciales de *Peumus boldus* Molina, *Laurelia sempervirens* Tul y *Laureliopsis philippiana* Looser (Monimiaceae) en el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)**

Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias Agronómicas con mención en Producción y Protección Vegetal

CRISTIAN PATRICIO ORTIZ ORTEGA

CHILLAN, CHILE

2016

Profesor Guía: Gonzalo Silva Aguayo

Dpto. de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía

Universidad de Concepción



VARIACIÓN ESTACIONAL DE LAS PROPIEDADES INSECTICIDAS E INSECTISTÁTICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *PEUMUS BOLDUS* MOLINA, *LAURELIA SEMPERVIRENS* TUL Y *LAURELIOPSIS PHILIPPIANA* LOOSER (MONIMIACEAE) EN EL CONTROL DE *SITOPHILUS ZEAMAI* MOTSCHULSKY (COLEÓPTERA: CURCULIONIDAE)

**Aprobada por:**

**Gonzalo Silva Aguayo**

Ing. Agrónomo, Mg. Cs., Dr. Cs.

Profesor Guía

**Ernesto Moya Elizondo**

Ing. Agrónomo, Mg. Cs., Ph.D.

Evaluador Interno

**J. Concepción Rodríguez- Maciel**

Ing. Agrónomo, M. Cs., Ph. D

Evaluador externo

**Susana Fischer Ganzoni**

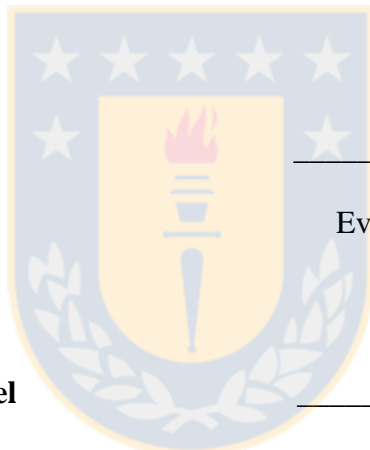
Ing. Agrónomo, Mg. Cs., Dr. Cs.

Evaluadora Interna

**Inés Figueroa Cares**

Ing. Agrónomo, Mg. Cs., Dr. Cs.

Directora de Programa



## RECONOCIMIENTO

La presente investigación fue financiada por el proyecto Fondecyt Iniciación N° 11110105 “Essential oil of *Peumus boldus* Molina, *Laurelia sempervirens* (Ruiz et Pau.) Tul and *Laureliopsis philippiana* Looser as an alternative to synthetic insecticides to *Sitophilus* spp. complex and *Acanthocelides obtectus* Say control in stored seeds”.



## TABLA DE CONTENIDO

<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL.....</b>	<b>3</b>
<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>6</b>
<b>OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>6</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>6</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>6</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>Variación estacional de las propiedades insecticidas de contacto y fumigante de los aceites esenciales de <i>Peumus boldus</i> Molina, <i>Laurelia sempervirens</i> Tul y <i>Laureliopsis philippiana</i> Looser (Monimiaceae) en el control de <i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae).....</b>	
	<b>11</b>
Resumen.....	11
Abstract.....	12
Introducción.....	13
Materiales y métodos.....	14
Resultados y discusión.....	17
Conclusiones.....	23
Literatura citada.....	23
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>Variación estacional de la repelencia de los aceites esenciales de <i>Peumus boldus</i> Molina, <i>Laurelia sempervirens</i> Tul y <i>Laureliopsis philippiana</i> Looser (MONIMIACEAE) sobre <i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky.....</b>	
	<b>37</b>
Resumen.....	37
Abstract.....	38
Introducción.....	39
Materiales y métodos.....	40
Resultados y discusión.....	42
Conclusiones.....	46

Literatura citada..... 47

**CONCLUSIONES GENERALES.....57**



# ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

## CUADROS

### CAPITULO I

Cuadro 1.- Mortalidad por contacto con grano tratado con aceite esencial de <i>L. philippiana</i> sobre <i>S. zeamais</i> adultos a los 15 días después de la infestación.....	32
Cuadro 2.- Mortalidad por contacto con grano tratado con aceite esencial de <i>L. sempervirens</i> sobre <i>S. zeamais</i> adultos a los 15 días después de la infestación....	32
Cuadro 3.- Mortalidad por contacto con grano tratado con aceite esencial de <i>P. boldus</i> sobre <i>S. zeamais</i> adultos a los 15 días después de la infestación.....	33
Cuadro 4.- Mortalidad de <i>S. zeamais</i> adultos por actividad fumigante de aceite esencial de <i>L. philippiana</i> a los 5 días después de la infestación.....	34
Cuadro 5.- Mortalidad de <i>S. zeamais</i> adulto por actividad fumigante de aceite esencial de <i>L. sempervirens</i> a los 5 días después de la infestación.....	35
Cuadro 6.- Mortalidad de <i>S. zeamais</i> adultos por actividad fumigante de aceite esencial de <i>P. boldus</i> a los 5 días después de la infestación.....	36

### CAPITULO II

Cuadro 1.- Escala de intensidad de repelencia de acuerdo a valores obtenidos con el índice de Mazzonetto y Vendramin (2003).....	53
Cuadro 2.- Principales constituyentes de los aceites esenciales de <i>L. sempervirens</i> , <i>L. philippiana</i> y <i>P. boldus</i> desde follaje colectado en Otoño, Invierno, Primavera y Verano determinado por Cromatografía de gases y Espectrometría de masas.....	54
Cuadro 3.- Efecto de la concentración sobre la repelencia de los aceites esenciales de <i>L. sempervirens</i> , <i>L. philippiana</i> y <i>P. boldus</i> contra adultos de <i>S. zeamais</i> .....	55
Cuadro 4.- Efecto repelente del aceite esencial de <i>L. sempervirens</i> sobre adultos de <i>S. zeamais</i> .....	56
Cuadro 5.- Efecto de la estacionalidad sobre la repelencia contra adultos de <i>S. zeamais</i> en la extracción de follaje de los aceites esenciales de <i>L. philippiana</i> y <i>P. boldus</i> .....	56

## FIGURAS

Figura 1.- Mortalidad por contacto con grano tratado a las 24, 48, 72 h y 7 y 15 días después de la infestación de tres aceites esenciales al 2% sobre *S. zeamais* adultos. A. *L. philippiana*, B. *L. sempervirens* y C. *P. boldus*..... **30**

Figura 2.- Mortalidad por contacto con grano tratado a las 24, 48, 72 h y 7 y 15 días después de la infestación de tres aceites esenciales al 4% sobre *S. zeamais* adultos. A. *L. philippiana*, B. *L. sempervirens* y C. *P. boldus*..... **31**





## RESUMEN

Las plagas asociadas a cereales almacenados son un grave problema a nivel mundial, siendo *Sitophilus zeamais* una de las más dañinas, ya que afecta a maíz, arroz y trigo entre otros. El control de esta plaga se ha realizado fundamentalmente con fumigantes sintéticos como bromuro de metilo y fosfuro de aluminio. Lamentablemente se han reportado problemas de intoxicaciones, contaminación ambiental y resistencia de la plaga, por lo que ha sido necesario investigar alternativas de control que no presenten estos problemas. Una alternativa son los aceites esenciales, que han presentado efecto insecticida de contacto y fumigantes e insectistático como repelentes. En Chile, se ha demostrado la eficacia de aceites esenciales provenientes de tres especies nativas de la familia Monimiaceae, *Laureliopsis philippiana*, *Laurelia sempervirens* y *Peumus boldus*; sin embargo, a pesar de los buenos resultados, se ha observado en diversas especies productoras de aceite esencial comportamientos variables en el control de plagas de acuerdo a la fenología del árbol y periodo del año en que se extrae el follaje. El objetivo de esta investigación fue evaluar, en condiciones de laboratorio, la variación estacional de las propiedades como insecticida de contacto, fumigante y repelente de los aceites esenciales de *L. philippiana*, *L. sempervirens* y *P. boldus* contra *S. zeamais*.

El análisis fitoquímico, por estación del año, mostró que los principales componentes de *P. boldus* fueron 1-8-cineol (14,9 a 40%) y Ascaridol (24,37%), en *L. sempervirens* Metil-eugenol (4,6 a 39,7%) y Safrol (38,5 a 64,7%) y en *L. philippiana* Safrol (17 a 39,6%) y Linalool (0,9 a 34,5%). En toxicidad por contacto, el aceite esencial de *L. philippiana* al 4% presentó la mayor actividad cuando se obtuvo de follaje colectado en invierno con una mortalidad de 97,5%. En *P. boldus* a la misma concentración, se registró mayor toxicidad en invierno y otoño con 100% de insectos muertos en ambas estaciones. En *L. sempervirens* la mayor mortalidad se observó en verano con un 100% al 2 y 4%. Esta tendencia se repitió en la toxicidad por fumigación, donde el aceite esencial de *L. philippiana* colectado en invierno a una concentración de 20  $\mu\text{L}$   $0,15\text{L}^{-1}$  de aire registró una mortalidad de 97,5%. *P. boldus* a una concentración de 10  $\mu\text{L}$   $0,15\text{L}^{-1}$  de aire causó 100% de mortalidad en otoño e invierno, al igual que el aceite esencial de *L. sempervirens* en verano e invierno a una concentración de 15  $\mu\text{L}$   $0,15\text{L}^{-1}$  de aire.

Salvo *L. philippiana* y *P. boldus* en concentraciones de 0,125 y 0,25 %, todos los tratamientos presentaron acción repelente, resultando las concentraciones iguales o mayores a 4% las con

mayor efecto. Solamente en el aceite esencial de *L. sempervirens* se observó efecto estacional, resultando más repelente el proveniente de follaje colectado en verano.

Se concluye que las propiedades insecticidas de contacto y fumigante de los aceites esenciales de *L. sempervirens*, *L. philippiana* y *P. boldus* sobre *S. zeamais* adultos varían significativamente de acuerdo a la estación de colecta del follaje, variación que para el efecto repelente solo se da en el aceite esencial de *L. sempervirens*.



## INTRODUCCION GENERAL

Los cereales, debido a su alto valor nutritivo y relativo bajo costo, poseen gran importancia en los países en vías de desarrollo. Sin embargo, se han reportado pérdidas por el ataque de insectos en postcosecha, que fluctúan entre 20 a 60% (Bashkar et al. 2011); siendo, el complejo *Sitophilus* spp (Coleóptera: Curculionidae) el grupo de insectos más relevante. Estos insectos plaga causan daños por alimentación directa y ovoposición, produciendo pérdida de peso, disminución del valor nutritivo y estético del grano junto con una disminución de la germinación (Padín et al., 2002).

El control de estas plagas, hasta la fecha, se ha resuelto parcialmente con estrategias químicas que presentan riesgos elevados de toxicidad y cuestionadas para exportación de productos agrícolas tratados (Okonkwo y Okoye, 1996; Parh et al., 1998; Liu y Ho, 1999; Tapondjou et al., 2005). De hecho, el uso de insecticidas convencionales ha derivado en el desarrollo de resistencia, acumulación de residuos peligrosos en el ambiente, intoxicaciones al ser humano y aumento de los costos de producción (White and Leesch, 1996). Actualmente, una de las pocas opciones disponibles para la fumigación de cereales almacenados es fosfuro de aluminio, compuesto que ya presenta reportes de resistencia (Torres et al., 2015). Por lo anterior, existe la necesidad de desarrollar alternativas para el control de plagas asociadas a granos almacenados (Michelraj et al., 2006), que no tengan los efectos adversos de los insecticidas convencionales.

El uso de compuestos de origen vegetal para el control de plagas es una técnica de antigua data (Pizarro et al., 2013), y consiste fundamentalmente en su uso como polvos, extractos o aceites esenciales (Isman, 2006). Estos últimos, están siendo cada vez más aceptados como una alternativa a los fumigantes sintéticos, fundamentalmente porque son menos peligrosos para el ambiente (Ngono et al., 2000), además de que se ha demostrado su efectividad contra plagas de productos almacenados (Betancur et al., 2010).

Los aceites esenciales derivados de plantas aromáticas son compuestos volátiles y complejos caracterizados por tener un fuerte aroma a causa de la presencia de metabolitos secundarios (Bakkali et al., 2008). Estos normalmente se extraen por hidrodestilación y se caracterizan por poseer una baja toxicidad residual (Isman, 2002). En términos biológicos son sustancias lipofílicas que interfieren con el metabolismo y comportamiento de los insectos (Tripathi et al., 2009). Kostyukovsky et al. (2002) señalan que el modo de acción de los aceites esenciales sobre los insectos es neurotóxico. Al respecto, Price y Berry (2006) concluyeron que eugenol, un

monoterpeno fenólico, constituyente común de los aceites esenciales actúa como un mímico o antagonista de la octopamina, bloqueando sus receptores, lo que altera la neurofisiología de *Periplaneta americana* L. (Blattaria: Blattidae). Estos autores, además señalan, que los compuestos geraniol y citrol, también presentes comúnmente en los aceites esenciales, muestran similitudes con la estructura de la octopamina, por lo que podrían tener un efecto similar a eugenol. Isman (2000) indica que existe una acción selectiva de los aceites esenciales, ya que los receptores de la octopamina no están presentes en vertebrados, por lo que resultan seguros para los mamíferos. Por último, según Betancur et al. (2010) aparte del modo de acción neurotóxico, los aceites esenciales también actúan como repelentes e inhibidores de la alimentación.

Las familias botánicas más conocidas por su producción de aceites esenciales son: Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae y Piperaceae entre otras, existiendo una amplia variedad en sus componentes y concentración (Regnault-Roger, 1997). Estos compuestos se pueden dividir en cuatro grupos: terpenos, derivados del benceno, hidrocarburos y otros compuestos misceláneos (Tripathi et al. 2009). Aunque, normalmente los monoterpenos constituyen un 90% de los aceites esenciales (Lahlou, 2004).

A pesar de que existe una gran cantidad de familias de plantas aromáticas con acción contra insectos, la gran mayoría de las especies estudiadas son originarias de zonas semitropicales o tropicales, por lo que no resulta factible su adaptación y producción en Chile. Esto último hace necesario investigar la actividad biológica de las especies nativas de Chile (Pizarro et al., 2013). A nivel nacional se han estudiado diferentes sustancias naturales con propiedades biológicas sobre insectos que atacan granos en postcosecha, como desechos industriales, minerales inertes y algunas plantas aromáticas, pero solo estas últimas son las que han mostrado resultados prometedores y en especial las pertenecientes a la familia Monimiaceae (Bittner et al., 2008).

La familia Monimiaceae incluye entre 150 a 220 especies de arbustos y 18 a 25 géneros de árboles. Estas son nativas del hemisferio sur y en Chile existen tres especies: *Peumus boldus* Molina (Boldo), *Laurelia sempervirens* (Ruiz et Pau.) Tul (Laurel) y *Laureliopsis philippiana* Looser (Tepa) (Rodríguez et al., 2005); las cuales se distribuyen abundantemente en la zona centro sur del país.

El boldo es mundialmente conocido por sus propiedades medicinales y antioxidantes (Quezada et al., 2004; Young et al., 2000; Russo et al., 2004; Vogel et al., 2005) y su aceite esencial ha

mostrado efecto insecticida de contacto, fumigante y repelente contra *S. zeamais* (Betancur et al., 2010) y *A. obtectus* (Bittner et al., 2008). Por otro lado, los mismos autores señalan que el aceite esencial de *L. sempervirens* presenta efecto insecticida sobre *A. obtectus*, mientras que Zapata y Smaghe (2010) reportan que el aceite esencial de follaje y corteza de esta misma planta presenta actividad como insecticida de contacto y fumigante e insectistático como repelente contra *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Igualmente Torres et al. (2015), demostraron que el polvo de follaje de *L. sempervirens* muestra actividad biológica como insecticida de contacto, inhibidor de la reproducción (F<sub>1</sub>) y efecto repelente sobre adultos y estados inmaduros de *S. zeamais* sin afectar la germinación de las semillas de maíz. En tanto, sobre la actividad biológica de *L. philippiana*, Ortiz et al. (2012) concluyeron que el polvo de follaje de este árbol presenta efecto insecticida de contacto y repelente contra *S. zeamais*.

Aún cuando los aceites esenciales han mostrado ser eficientes insecticidas, su composición química difiere en cada extracción a causa de factores como zona geográfica, estación del año y edad de la planta entre otros. Aunque según Lahlou (2004) cambia más la concentración que el número de componentes. Rodríguez et al. (2003) señalan que los insecticidas de origen vegetal presentan variabilidad en cuanto al tipo y concentración de sus compuestos, debido a factores como la época del año en que se colectan, ubicación geográfica y estado fenológico de la planta, siendo uno de los mayores inconvenientes para la protección vegetal, el desconocimiento de la época de colecta y edad de las hojas. Guan y Bottrell (1994) señalan que las inconsistencias en la efectividad del Neem (*Azadirachta indica* A. Juss; Meliaceae), como controlador de plagas en campo, se deben a que las concentraciones de azaridachtina, el principal compuesto activo, pueden diferir entre un lugar geográfico y otro. Al respecto Sidhu, et al. (2003) estudiaron los contenidos de *azaridachtina*  $\alpha$  y  $\beta$ , de árboles de Neem provenientes de 43 provincias de India, encontrando incluso diferencias entre árboles provenientes de la misma provincia y agroecosistema. En cuanto a las monimiáceas chilenas, de acuerdo a Pérez et al. (2007) sólo se conoce que las propiedades insecticidas de *P. boldus* sobre *S. zeamais* no son estables durante el año, siendo mayo el mes donde esta planta presenta la menor actividad entomo tóxica. Por lo que, aún cuando se ha demostrado la acción insecticida e insectistática de los aceites esenciales de *P. boldus* y *L. sempervirens*, es importante conocer las variaciones estacionales que sufren los aceites de las tres monimiáceas nativas en cuanto a sus propiedades biocidas, para estimar la

fecha de colecta óptima en que el follaje tendrá la mayor concentración de compuestos químicos que aporten al control de plagas de cereales almacenados.

## **HIPÓTESIS**

Las propiedades insecticidas e insectistáticas de los aceites esenciales de *P. boldus*, *L. sempervirens* y *L. philippiana* contra adultos de *S. zeamais* varían significativamente según la estación del año en que se extrae el follaje.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto de la variación estacional de la extracción del follaje de *P. boldus*, *L. sempervirens* y *L. philippiana* sobre las propiedades insecticidas e insectistáticas de los aceites esenciales de estas especies contra adultos de *S. zeamais*.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar el efecto de la variación estacional de la extracción del follaje de *P. boldus*, *L. sempervirens* y *L. philippiana* en las propiedades como insecticida de contacto y fumigante de sus aceites esenciales contra *S. zeamais*.
- Analizar el efecto de la variación estacional de la extracción del follaje de *P. boldus*, *L. sempervirens* y *L. philippiana* en las propiedades insectistáticas como repelente de adultos de *S. zeamais* de los aceites esenciales de estas especies.

## **LITERATURA CITADA**

Bakkali, F., S. Averbeck, D. Averbeck, and M. Idoamar. 2008. Biological effects of essential oil- A review. *Food and Chemical Toxicology* 46:446-475.

Bashkar, B., S. Tripathi, and C. Tripathi. 2011. Contact toxicity of essential oil of *Citrus reticulata* fruit peels against stored grain Pest *Sitophilus oryzae* and *Tribolium castaneu*. *World Journal of Zoology* 6 (3): 307-311.

Betancur, J., G. Silva, J.C. Rodríguez, S. Fischer, and N. Zapata. 2010. Insecticidal activity of *Peumus Boldus* Molina essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. Chilean Journal of Agricultural Research (Chile). 70(3):399-407.

Bittner, M., M. Casanueva, C. Arbert, M. Aguilera, V. Hernández, and J. Becerra. 2008. Effects of essential oils from five plants species against the granary weevil *Sitophilus zeamais* and *Acanthoscelides obtectus*. J. Chil. Chem. Soc. 53: 1455-1459.

Guan, I., and D. Bottrell. 1994. Neem pesticides in rice: potential and limitations. Manila. IRRI. 69p.

Isman, M.B. 2000. Plant essential oil for pest and disease management. Crop Protection 19:603-608.

Isman, M.B. 2002. Les biopesticides d'origine végétale. Editions TEC et DOC 11. Rue Lavoisier, Paris. 337p.

Isman, M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and increasingly regulated world. Annu. Rev. Entomol. 51:45-66.

Kostyukovsky, M., A. Rafaeli, C. Gileadi, N. Demchenko, and E. Shaaya. 2002. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. Pest Management Science 58: 1101–1106.

Lahlou, M. 2004. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phytoter. Res. 18: 435-448.

Liu, Z., and S. Ho. 1999. Bioactivity of the essential oil extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook f. et Thomas against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* Motsch. and *Tribolium castaneum* (Herbst). Journal of Stored Products Research 35: 317–328.

Michelraj, S., and R.K. Sharma. 2006. Fumigant toxicity of neem formulations against *Sitophilus oryzae* and *Rhyzopertha dominica*. *Journal of Agricultural Technology* 2(1): 1-16.

Ngono, N. A., L. Biyiti, P.H. Amvam Zollo, and Ph. Bouchet. 2000. Evaluation of antifungal activity of extracts of two Camerounian Rutaceae: *Zanthoxylum leprieurii* Guill et Perr and *Zanthoxylum xanthoxyloides* Waterm. *Journal of Ethnopharmacology*, 70: 335–342.

Okonkwo, E., and W. Okoye. 1996. The efficacy of four seed powders and the essential oils as protectants of cowpea and maize grains against infestation by *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae) and *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae) in Nigeria. *International Journal of Pest Management* 42: 143–146.

Ortiz, A., G. Silva, A. Urbina, N. Zapata, J.C. Rodríguez, and A. Lagunes. 2012. Bioactivity of Tapa (*Laureliopsis philippiana* (Looser) Shodde) powder to *Sitophilus zeamais* Motschulsky control in laboratory. *Chilean Journal of Agricultural Research* 72(1): 68-73.

Padín, S., G. Dal Bello, and M. Fabrizio. 2002 Grain loss caused by *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae* and *Acanthoscelides obtectus* in stored durum wheat and beans treated with *Beauveria bassiana*. *Journal of Stored Products research*, 38: 69-74.

Parh, I.A., B.C. Forbuzo, E.L. Matheney, and J.F. Ayafor. 1998. Plants used for the control of insect pests on stored grains in parts of North West Highland Savana zone of Cameroon. *Sciences Agronomiques et Developpement* 1:54–60.

Pérez, F., G. Silva, M. Tapia, y R. Hepp, 2007. Variación anual de las propiedades insecticidas de *Peumus boldus* sobre *Sitophilus zeamais*. *Pesq Agrop Bras* 42: 633 - 639.

Pizarro, D., G. Silva, M. Tapia, J.C. Rodriguez, A. Urbina, A. Lagunes, C. Santillán-Ortega, A. Robles-Bermúdez, and S. Aguilar-Medel. 2013. Insecticidal activity of *Peumus boldus* Molina (Monimiaceae) powder against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae).



Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas (BLACPMA). 12(4): 420-430.

Price, D.N., and M.S. Berry. 2006. Comparison of effects of octopamine and insecticidal essential oils on activity in the nerve cord, foregut, and dorsal unpaired median neurons of cockroaches. *Journal of Insect Physiology* 52 (3), 309-319.

Quezada, N., M. Ascencio, J. Del Valle, J. Aguilera and B. Gómez. 2004. Antioxidant activity of crude extract, alkaloid fraction, and flavonoid fraction from Boldo (*Peumus boldus* Molina) leaves. *Journal of Food Science* 69: 371-376.

Regnault-Roger, C. 1997. The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integrated Pest Management Reviews*. 2: 25-34.

Rodríguez, C., G. Silva y J. Vendramim. 2003. Insecticidas de origen vegetal. In: Silva, G., y R. Hepp. (Ed.). *Bases para el manejo racional de insecticidas*. Chillán: Universidad de Concepción/ Fundación para la Innovación Agraria, p. 87-112.

Rodríguez, R., E. Ruiz, y J.P. Elissetche. 2005. *Árboles en Chile*. Editorial Universidad de Concepción. Concepción. Chile.

Russo, A., V. Cardile, F. Sánchez, N. Troncoso, A. Vanell, and J.A.Garbarino. 2004. Chilean propolis: antioxidant activity and antiproliferative action in human tumor cell lines. *Life Sciences*, 76: 545-558.

Sidhu, O.P., V. Khumar, and H.M. Behl. 2003 Variability in Neem (*Azadirachta indica*) with respect to azadirachtin content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.51: 910-915.

Tapondjou, A., C. Adler, H. Bouda, D. Fontem, and C. Reichmuth. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Stored Products Research*, 41: 91-102.

Torres, C., G. Silva, M. Tapia, J.C. Rodríguez, A. Urbina, I. Figueroa, A. Lagunes, C. Santillán-Ortega, A. Robles-Bermúdez, y S. Aguilar-Medel. 2015. Propiedades insecticidas del polvo de *Laurelia sempervirens* L. para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas (BLACPMA) 14 (1): 48 – 59.

Tripathi, A. K., S. Upadhyay, M. Bhuiyan, and P.R. Bhattacharya. 2009. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy. 1(5): 052-063.

Vogel, H., I. Razmilic, J. San Martín, U. Doll, y B. González. 2005. Plantas medicinales chilenas. Experiencias de domesticación y cultivo de Boldo, Matico, Bailahuén, Canelo, Peumo y Maqui. Editorial Universidad de Talca. Talca. Chile.

White, D., and J. Leesch. 1996. Chemical control. In: Subramanyam, B.; Hagstrum, D. (Ed.). Insects in stored products. New York: M. Dekker. p.287-330.

Young, Y., J. Song, E.s.Han, and C.S. Lee. 2000. Protective effect of boldine on oxidative mitochondrial damage in streptozotocin-induced diabetic rats. Pharmacological Research, 42: 361-371.

Zapata, N., and G. Smagghe. 2010. Repellency and toxicity of essential oils from the leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneum*. Ind. Crops Prod. 32: 405 - 410.

## CAPÍTULO I

### VARIACIÓN ESTACIONAL DE LAS PROPIEDADES INSECTICIDAS DE CONTACTO Y FUMIGANTE DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Peumus boldus* Molina, *Laurelia sempervirens* Tul Y *Laureliopsis philippiana* Looser (MONIMIACEAE) EN EL CONTROL DE *Sitophilus zeamais* Motschulsky (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

### SEASONAL VARIATION OF CONTACT AND FUMIGANT INSECTICIDAL PROPERTIES OF ESSENTIAL OILS OF *Peumus boldus* Molina, *Laurelia sempervirens* Tul AND *Laureliopsis philippiana* Looser (MONIMIACEAE) TO *Sitophilus zeamais* Motschulsky (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) CONTROL

C. Ortiz<sup>2</sup>, G. Silva<sup>2\*</sup>, E. Moya<sup>2</sup>, S. Fischer<sup>2</sup>, A. Urbina<sup>2</sup>, J.C. Rodríguez<sup>3</sup>

<sup>2</sup>Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Vicente Méndez 595, Chillán, Chile.

<sup>3</sup>Programa de Entomología y Acarología. Colegio de Postgraduados. Km 36,5 Carretera Federal. México-Texcoco. Montecillo. Estado de México. México.

\*Autor para correspondencia: gosilva@udec.cl

Artículo en preparación para la revista Chilean Journal of Agricultural and Animal Science

## RESUMEN

Una de las principales plagas de los cereales almacenados es *Sitophilus zeamais*. El objetivo del presente trabajo fue estudiar en condiciones de laboratorio la variación estacional de la actividad insecticida de contacto y fumigante de los aceites esenciales de *P. boldus*, *L. sempervirens* y *L. philippiana*, sobre adultos de *S. zeamais*. En un bioensayo de toxicidad por contacto se evaluaron las concentraciones de 0,25; 0,5; 1; 2 y 4% y en el de fumigante: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35  $\mu\text{L}$   $0,15 \text{ L}^{-1}$  aire. El diseño experimental fue completamente al azar con un arreglo factorial y cuatro repeticiones por tratamiento. Las propiedades insecticidas de contacto y fumigante de los aceites esenciales de *L. sempervirens*, *L. philippiana* y *P. boldus* sobre *S. zeamais* variaron significativamente de acuerdo a la estación de colecta del follaje. El aceite esencial de *L.*

*philippiana* a una concentración de 4% presentó mayor toxicidad de contacto cuando se obtuvo de follaje colectado en invierno con una mortalidad de 97,5%. A esta misma concentración el aceite esencial de *P. boldus* registró mayor toxicidad en invierno y otoño con 100% de mortalidad en ambos casos y el aceite esencial de *L. sempervirens* al 2% la estación de colecta que presentó mayor toxicidad fue verano con 100% de mortalidad. Esta misma tendencia se observó en la toxicidad por actividad fumigante, donde el aceite esencial de *L. philippiana* colectado en invierno a una concentración de 20  $\mu\text{L}$   $0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire registró una mortalidad de 97,5%. *P. boldus* a una concentración de 10  $\mu\text{L}$   $0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire registró 100% de mortalidad en otoño e invierno, al igual que el aceite esencial de *L. sempervirens* cuando su follaje se colectó en verano e invierno a una concentración de 15  $\mu\text{L}$   $0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire. Se concluye que las propiedades insecticidas de contacto y fumigante de los aceites esenciales de *P. boldus*, *L. sempervirens* y *L. philippiana* varían significativamente de acuerdo a la estación del año.

**Palabras clave:** variación estacional, propiedades insecticidas, toxicidad.



### ABSTRACT

*Sitophilus zeamais* is one of a key pest of stored cereals is. The objective of this research was to study, under laboratory conditions, the seasonal variation of contact and fumigant insecticidal activity of essential oils of *P. boldus*, *L. sempervirens* and *L. philippiana* against adult *S. zeamais*. Contact toxicity bioassays were assessed at the concentrations of 0.25, 0.5, 1, 2, and 4%. In the case of fumigants we used the concentrations of 5, 10, 20, 25, 30, and 35  $\mu\text{L}$   $0.15 \text{ L}^{-1}$  air. The experimental design was completely randomly with a factorial arrangement and each treatment had four replicates. The insecticidal contact and fumigant properties of essential oils of *L. sempervirens*, *L. philippina* and *P. boldus* against *S. zeamais* vary significantly according to foliage collecting season. The essential oil of *L. philippiana* at concentrations of 4% showed the highest toxicity when the foliage was field-collected in Winter with a mortality of 97.5%. At the same concentration, the essential oil of *P. boldus* recorded higher toxicity in Winter and Fall with 100% of mortality in both cases and essential oil of *L. sempervirens* at 2% the recollecting season that showed highest toxicity was summer with 100% of mortality. This same trend was observed in fumigant toxicity when essential oil of *L. philippiana* collected in Winter in a concentration of 20  $\mu\text{L}$   $0.15 \text{ L}^{-1}$  air showing a mortality of 97.5%. *P. boldus* in a concentration of 10  $\mu\text{L}$   $0.15 \text{ L}^{-1}$

air exhibited mortality of 100% in Fall and Winter similar to essential oil of *L. sempervirens* when its foliage was recollected in Winter and Summer at the concentration of 15  $\mu\text{L}$   $0.15 \text{ L}^{-1}$  air. We concluded that contact and fumigant insecticidal properties of essential oils of *P. boldus*, *L. sempervirens* and *L. philippiana* vary significantly according to year seasons.

**Key words:** seasonal variation, insecticidal properties, toxicity.

## INTRODUCCIÓN

En la alimentación humana y animal los cereales son un componente fundamental; sin embargo, Abebe et al. (2009) señalan que mundialmente se pierde un 30% de las cosechas por causa de los insectos plaga, los que en seis meses pueden destruir al menos el 50% de la cosecha (Betancur et al., 2010).

El gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae), es una plaga cosmopolita considerada como primaria de los cereales almacenados. El ataque de esta especie se origina en el campo, pudiendo ocasionar la destrucción completa de los granos almacenados si en postcosecha no se toman medidas de control (Pizarro et al., 2013). El principal daño es causado por el adulto y la larva al alimentarse del endosperma de la semilla, además que su respiración aumenta la temperatura y permite el ingreso de plagas secundarias u hongos (Larraín, 1994).

Actualmente se utilizan insecticidas sintéticos para contrarrestar el ataque de estos insectos plaga (Huang y Subramanyam, 2005), siendo los más recurrentes insecticidas de contacto como organofosforados o piretroides y fumigantes como bromuro de metilo o fosforo de aluminio. Pero, estos compuestos han presentado residuos peligrosos en semillas, han producido intoxicación de usuarios y consumidores, contaminación del ambiente y desarrollo de resistencia (White and Leesch, 1996). En el caso específico de los fumigantes, Budnik et al. (2012) señalan que el bromuro de metilo, utilizado para la protección de semillas, se encuentra prohibido en varios países por afectar la capa de ozono y además la exposición a este compuesto podría asociarse a efectos genotóxicos en linfocitos y células orofaríngeas (Calvert et al. 1998). Silva et al. (2005) además señalan que algunos de estos compuestos son de alto costo, por lo que es importante buscar alternativas de control que con la misma eficacia que los sintéticos, no

presenten estos problemas, como son los insecticidas vegetales (Roel e Vendramim, 2006). Dentro de estos Santiago et al. (2014) indican que los aceites esenciales, que están formados por una mezcla de compuestos volátiles de diversa naturaleza química, han demostrado poseer actividad biológica como fumigante y repelente. Según Pandey et al. (2011), los aceites esenciales tienen un modo de acción neurotóxico, bloqueando los receptores de la octopamina, un neurotransmisor que participa en la regulación del movimiento, metabolismo, frecuencia cardíaca y comportamiento del insecto. Además como este neurotransmisor no se encuentra en vertebrados, los aceites esenciales tienen acción selectiva no afectando a mamíferos (Isman, 2000).

Entre las plantas aromáticas que han mostrado resultados prometedores para el control de plagas de postcosecha destacan las de la familia Monimiaceae (Bittner et al., 2008), de las cuales existen tres especies nativas de Chile: *Laurelia sempervirens* (Ruiz et Pau.) Tul (Laurel), *Peumus boldus* Molina (Boldo) y *Laureliopsis philippiana* Looser (Tepa) (Rodríguez et al., 2005). Bittner et al. (2008) y Zapata y Smagghe (2010) señalan que el aceite esencial de *L. sempervirens* presenta efecto insecticida sobre *A. obtectus* y *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) respectivamente. Además, se ha reportado efecto insecticida de contacto y fumigante del aceite esencial de *P. boldus* contra *S. zeamais* y *A. obtectus* (Bittner et al., 2008, Betancur et al., 2010). Igualmente Ortiz et al (2012), señalan que el polvo de hojas deshidratadas de *L. philippiana* presenta toxicidad de contacto y efecto repelente sobre *S. zeamais*. Aun cuando los resultados son prometedores, según Rodríguez et al. (2003), los insecticidas de origen vegetal presentan variabilidad en cuanto al tipo, número y concentración de sus compuestos químicos, debido a factores como estado fenológico y estación del año en que se extrae la materia prima, entre otros. De hecho Pérez et al. (2007) señalan que, las propiedades insecticidas del polvo de hojas de *P. boldus* no son estables durante el año siendo mayo el mes con la menor actividad insecticida. Por todo lo antes expuesto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar, en condiciones de laboratorio, la variación estacional de las propiedades insecticidas de contacto y fumigante del aceite esencial de *P. boldus*, *L. sempervirens* y *L. philippiana* contra adultos de *S. zeamais*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Entomología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Campus Chillán, Región del Bío-bío, Chile.

## Material vegetal

Se recolectaron hojas de *P. boldus* y *L. sempervirens* en la zona de Los Lleuques (36°51'18"S, 71°38'34"W, 286 msnm) provincia de Ñuble, Región del Bío-Bío, Chile y de *L. philippiana* en la provincia de Maullín (41°41'S, 73°25'W, 28 msnm), Región de Los Lagos. Se recolectó en estas zonas debido a que están libres de polución y estudios preliminares de Ortiz et al. (2012) y Pérez et al. (2007) mostraron resultados prometedores con material vegetal colectado en estos sectores. El follaje se colectó durante todas las estaciones del año: otoño, invierno, primavera y verano, siempre en el mismo grupo de árboles, que se marcaron con estacas para facilitar su ubicación. La obtención del follaje se realizó de acuerdo al criterio de Vogel et al. (1997) consistente en colectar a una altura constante del árbol y de los cuatro puntos cardinales. El follaje extraído, para corroborar su identificación botánica, se comparó con muestras depositadas en el herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción campus Chillán, Chile. El follaje se deshidrató en un horno de convección forzada a 40±5 °C por 72 h y luego el aceite esencial se obtuvo por hidrodestilación mediante arrastre de vapor en un aparato tipo Clevenger por 3 h (Chu et al. 2011). Luego, para eliminar los residuos de agua del aceite esencial se mezcló con sulfato de sodio anhídrido en un embudo de decantación y se almacenó en frascos de vidrio ámbar a 4±1 °C en un refrigerador.

## Insectos.

Se colectaron ejemplares de *S. zeamais* de cereales infestados y desechados en el mercado de frutas y hortalizas de Chillán. En laboratorio estos se mantuvieron en frascos de vidrio de 1 L con maíz (*Zea mays* L.) CV Dekalb DK440, como sustrato alimenticio y en condiciones controladas de 25±1 °C de temperatura, humedad relativa de 65±5 % y 12:12 h luz:oscuridad de fotofase en una cámara bioclimática (IPS 749, Memmert GmbH, Schwabach, Germany). La confirmación taxonómica de los insectos se realizó con un análisis morfológico comparándolos con la colección de referencia del Departamento de Zoología de la Facultad de Recursos Naturales y Oceanográficos de la Universidad de Concepción.

### Toxicidad por contacto

Se utilizó el procedimiento de Obeng-Oferi et al. (1998), que consistió en aplicar una solución de aceite esencial diluida en 1 mL de acetona en un frasco de 400 mL con 100g de maíz, el cual se agitó por 15 s para que la solución cubriera uniformemente los granos. Posteriormente el frasco se dejó por 2 h a temperatura ambiente ( $20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) para que la acetona se evaporara. Transcurrido este periodo los frascos se infestaron con 10 parejas de insectos adultos de 48 h de edad. Las unidades experimentales se almacenaron en una cámara bioclimática en las mismas condiciones que la cría de insectos y la mortalidad se evaluó a las 24, 48 y 72 h y 7 y 15 días después de la infestación (DDI). Las concentraciones evaluadas fueron 0,25, 0,5, 1, 2 y 4 % (v/p) y cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones, siendo el testigo un frasco con maíz infestado con insectos y mezclado con 1 mL de acetona. El porcentaje de mortalidad se corrigió con la fórmula de Abbott (Abbott, 1925).

### Toxicidad por fumigación

La toxicidad por fumigación se evaluó con el bioensayo descrito por Huang y Subramanyam (2005), utilizando como cámara de fumigación un frasco de plástico de 150 mL de volumen (0,15 L). El frasco contenía 20 g de maíz infestado con 15 insectos adultos sin diferenciación de sexos. Los aceites esenciales se aplicaron, con una micropipeta, sobre discos de papel filtro Whatman N ° 10 (Whatman, Maidstone, Kent, Reino Unido) de 5,5 cm de diámetro pegados en la cara interna de las tapas de los frascos. Además, el lado interno superior del frasco se impregnó con vaselina para prevenir el contacto directo de los insectos con el aceite. La mortalidad se evaluó a los 5 DDI. Se evaluaron concentraciones de aceite esencial de 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35  $\mu\text{L}$   $0,15 \text{ L}^{-1}$  aire por disco de papel filtro. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones y el testigo consistió en el papel filtro sin impregnar con aceite esencial. El porcentaje de mortalidad se corrigió con la fórmula de Abbott (Abbott, 1925).

### Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial de 4\*5 (cuatro estaciones del año y cinco concentraciones de aceite esencial) para el bioensayo de toxicidad por contacto y de 4\*7 (cuatro estaciones del año y siete concentraciones de aceite esencial) para el bioensayo de actividad fumigante. Los datos se analizaron con el software InfoStat®, mediante



pruebas de Shapiro-Wilk para la comprobación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de las varianzas y se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) con un 5% de significancia ( $\alpha=0,05$ ). Posteriormente los valores de mortalidad por contacto con grano tratado y efecto fumigante se sometieron a un análisis de varianza no paramétrico de Kruskal Wallis.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Toxicidad por contacto

En el bioensayo de contacto con grano tratado, solo las concentraciones de 2 y 4% superaron el 50% de mortalidad. En el caso del aceite esencial de *L. philippiana* al 2% se observó, en general, una baja toxicidad (Figura 1A), presentándose solamente un incremento en el tiempo en la obtenida de follaje colectado en invierno, que alcanzó a los 15 DDI un 22,5 % de mortalidad. En *P. boldus* al 2%, sólo el aceite proveniente de material colectado en invierno presentó un alza significativa en la mortalidad, llegando a un 58,75% a los 15 DDI (Figura 1C). En esta concentración solo se observó efecto derribante en *L. sempervirens*, ya que en los aceites provenientes de hojas colectadas en verano e invierno a los 7 DDI se obtuvo un 100 y 92,17% de mortalidad respectivamente (Figura 1B).

En las concentraciones de 2 y 4% de aceite esencial de *L. philippiana*, sólo el aceite proveniente de follaje colectado en invierno presentó toxicidad sobre el 90% a los 15 DDI (97,5%) (Figura 2A). El aceite esencial de *L. sempervirens* mostró efecto derribante en todas las épocas de extracción de material biológico, aunque en verano e invierno, a las 48 y 72 horas presentó un 100% de mortalidad, lo que en otoño y primavera se produjo a los 7 DDI (Figura 2B). Finalmente en *P. boldus*, sólo los aceites provenientes de material vegetal colectado en invierno y otoño presentaron efecto derribante, llegando a 100% de mortalidad a los 7 DDI (Figura 2C). Por lo anterior, se puede señalar que de los tres aceites esenciales estudiados el que presentó un mayor efecto derribante fue *L. sempervirens*, seguido de *P. boldus* y *L. philippiana*, siendo este último el con menor efecto.

La alta actividad de contacto obtenida en *L. sempervirens* concuerda con Torres et al. (2014), quienes alcanzaron una mortalidad de 100% de adultos de *S. zeamais* con concentraciones similares o superiores a 10 mL de aceite esencial  $\text{kg}^{-1}$  de grano. Además Betancur et al. (2010) señalan que a una concentración de 4% de aceite esencial de *P. boldus* se obtiene un 80% insectos muertos, valor inferior al de *L. sempervirens* a la misma concentración. En cuanto al

menor efecto de contacto presentado por el aceite esencial de *L. philippiana*, Bittner et al. (2008) obtuvieron una mortalidad inferior a 20% con aceite esencial de este árbol, lo que es incluso menor a los resultados de esta investigación. Igualmente al analizar estudios previos con polvo de follaje de *L. serpervirens*, Torres et al. (2015) reportaron una mortalidad de 100% a una concentración de 0,5%, que fue superior a *P. boldus* y *L. philippiana*, con las cuales Silva et al. (2003 a y b) y Ortiz et al. (2012), obtuvieron 90% de insectos muertos con concentraciones iguales o superiores a 1,0% (p/p). Los promisorios resultados obtenidos con el aceite esencial de *L. sempervirens* se pueden deber a su alto contenido de safrol, que fluctúa entre 38,5% en otoño a 64,7% en primavera. *L. philippiana* posee entre un 17,0% en verano a un 39,6% en primavera de este compuesto, mientras que *P. boldus* solo registra 1,5% en primavera (Ortiz et al., 2016). Niemeyer y Teillier (2007), Bittner et al. (2008) y Montenegro et al. (2012) también identificaron a safrol como el principal constituyente del aceite esencial de *L. sempervirens*, el cual, según Huang et al. (2002) tiene actividad biológica como insecticida de contacto contra *S. zeamais*. Por tanto, los resultados obtenidos sumados a los antecedentes previos indican que *L. sempervirens* constituye una mejor opción que *P. boldus* y *L. philippiana* como insecticida de contacto, ya que por su mayor toxicidad y efecto derribante requiere una menor cantidad de material vegetal, afectando en menor grado la densidad natural de la planta.

Al evaluar mortalidad a los 15 DDI se observa que salvo en *L. philippiana* colectada en primavera en todos los restantes bioensayos se incrementó la mortalidad significativamente al aumentar la concentración del aceite esencial (Cuadros 1 a 3). Esto concuerda con Popovic et al. (2006) y Bittner et al. (2008), quienes indican que con todos los aceites esenciales utilizados en el control de plagas de granos almacenados, la mortalidad se incrementa a medida que el tiempo de exposición o la concentración aumentan. En los tres aceites esenciales se observó efecto significativo de la época de colecta de follaje sobre la toxicidad por contacto. En *L. philippiana* a las concentraciones de 2 y 4%, el aceite esencial cuyas hojas se extrajeron en invierno resultó significativamente más tóxico (22,5 y 97,5% de mortalidad respectivamente), que el de otoño (1,3%) y verano (1,3%) para la concentración de 2% y que primavera (32,2%) y verano (35,4%) para 4%. Los tratamientos de primavera al 2% y otoño al 4% no resultaron significativamente diferentes que los con menor mortalidad, por lo que no fueron considerados para el análisis posterior (Cuadro 1). En *L. sempervirens* sólo con la concentración de 2% se encontró efecto estacional significativo, obteniéndose mayor mortalidad (100%) en el aceite cuyas hojas se

extrajeron en verano. El aceite de otoño y primavera mostró 52,0 y 47,7% de mortalidad respectivamente. Sin embargo, aunque el aceite de invierno resultó altamente tóxico (94,7%), no hubo diferencia significativa con el de otoño, por lo que no se consideró para el análisis. A la concentración de 4% no hubo diferencia estacional, ya que debido al efecto derribante de este aceite esencial (Figura 2B), en todas las estaciones de colecta se obtuvo un 100% de mortalidad a los 15 DDI. Finalmente, el aceite esencial de *P. boldus* al 2% de hojas que se extrajeron en invierno resultó significativamente más tóxico (58,8% de mortalidad), que el de primavera (6,6%) y verano (1,3%). Además, el de otoño a pesar de tener una toxicidad mayor (26,0%), no fue significativamente diferente al de primavera y verano. En 4% los aceites provenientes de hojas colectadas en invierno y otoño mostraron mayor mortalidad (100%) que el aceite cuyas hojas se extrajeron en verano (57,7%) y aun cuando el aceite de primavera alcanzó una alta toxicidad (83,6%), no hubo diferencia significativa con respecto al de verano. Estos resultados coinciden con Pérez et al. (2007), quienes reportaron variación estacional en la actividad de contacto del polvo de *P. boldus*. La tendencia observada para *L. philippiana* podría explicarse en el alto porcentaje de safrol reportado en invierno (32,6%) (Ortiz et al., 2016), al que Bittner et al. (2009) y Montenegro et al. (2012) atribuyen su actividad insecticida. Según Huang et al. (1999), safrol ha mostrado actividad insecticida contra *S. zeamais* y *T. castaneum* y de acuerdo a Zapata et al. (2010) contra *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Homoptera: Aphididae). En el caso de *L. sempervirens* los resultados de variación estacional coinciden con el análisis fitoquímico reportado por Ortiz et al. (2016), en que este aceite presenta un alto contenido de safrol en verano (58,0%) y aun cuando no supera el 3%, en la misma estación hay una concentración proporcionalmente mayor de (E)-germacreno D (2,3%) en comparación a las otras. Por tanto, Safrol sumado a (E)-germacreno D eventualmente podrían ser los causantes de la actividad de contacto en el aceite esencial de *L. sempervirens* cuando su follaje se colecta en verano.

En cuanto a *P. boldus*, los resultados coinciden con Pérez et al. (2007), quienes reportaron una mortalidad superior al 98%, en el mes de julio con la concentración de 0,5% con polvo de hojas de esta especie. Esto se puede explicar en que el compuesto predominante de este aceite esencial fue 1-8-cineol, principalmente en invierno (40,0%) y otoño (35,4%) (Ortiz et al., 2016), lo que concuerda con Vogel et al. (2005), quienes determinaron que los valores máximos de compuestos activos en *P. boldus* se obtienen en julio y por Niemeyer y Teillier (2007) y Urzúa et al., (2010), quienes concluyeron que uno de los compuestos que se encuentra en mayor concentración en *P.*

*boldus* es 1,8-cineol, al cual Lee et al. (2001 y 2004), le confieren gran potencial como insecticida para granos almacenados. Por tanto, es muy probable que 1-8-cineol sea el causante de la alta toxicidad de contacto expresada en el aceite esencial de *P. boldus* en otoño e invierno.

#### Actividad fumigante

La toxicidad como fumigante de los tres aceites esenciales evaluados fue significativamente mayor en la medida que aumentó la concentración (Cuadros 4, 5 y 6).

En *L. philippiana*, la mayor toxicidad se observó con el aceite esencial de Invierno, ya que con una concentración de 25  $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire se registró 100% de mortalidad, seguido del de primavera y otoño que alcanzaron una mortalidad de 98,3% a una concentración de 30  $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire. El menos tóxico fue el aceite de verano que tuvo un 95% de insectos muertos a una concentración de 35  $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire (Cuadro 4). En *L. sempervirens* la mayor toxicidad fue del aceite esencial proveniente de hojas colectadas en invierno, en el que con una concentración de 15  $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire se logró un 100% de mortalidad, mientras en primavera, verano y otoño esta mortalidad se alcanzó a una concentración de 20  $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire (Cuadro 5). Finalmente, en *P. boldus* se observaron valores de mortalidad altos con bajas concentraciones, ya que en otoño y primavera se llegó a 100% de insectos muertos con 10  $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire, mientras en primavera y verano se alcanzó con 15  $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire (Cuadro 6).

Los resultados obtenidos en *L. philippiana* no coinciden con Ortiz et al. (2012), quienes señalan que el polvo de hojas de esta especie no tiene propiedades fumigantes, ya que todas las concentraciones evaluadas mostraron 0% de mortalidad de *S. zeamais*. Sin embargo, esto en parte se podría explicar por la menor actividad fumigante de este aceite en relación a los dos restantes. Para el caso de *L. sempervirens* los resultados tampoco coinciden con lo reportado por Torres et al. (2014), en que la mayor mortalidad de este aceite esencial fue de 72,5% en el tratamiento de 175  $\mu\text{L } \text{L}^{-1}$  de aire que equivale a una concentración aproximada de 25  $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire, la que en el presente ensayo registró una mortalidad de 100% junto con que, según estos mismos autores ese tratamiento fue significativamente más tóxico que otras concentraciones que no excedieron del 5% de insectos muertos. Torres et al. (2015) reportan también que la toxicidad como fumigante del polvo de *L. sempervirens* no superó el 40% de mortalidad. Finalmente en *P. boldus* los resultados coinciden con Betancur et al. (2010) quienes reportaron acción fumigante de este aceite esencial con 100% de mortalidad en concentraciones superiores a 20  $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire,

aun cuando en el presente ensayo se reportó mortalidad de 100% con dosis de 10 y 15  $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire. Para *P. boldus*, Pizarro et al. (2013) reportaron 100% de mortalidad con una concentración de 2,0% (p/p), no superando el 30% de mortalidad con las concentraciones menores junto con que Nuñez et al. (2010) reportaron una mortalidad de 33,3; 46,6 y 31,6% a las concentraciones de 0,5; 1, y 2% (p/p) respectivamente. La disparidad de antecedentes recopilados se puede deber a que en los ensayos anteriores se evaluó la mortalidad a las 24 horas, en cambio en el presente estudio se hizo a los 5 DDI, sumado a que probablemente el efecto fumigante del aceite esencial sea mayor que el del polvo de estas especies, ya que según Isman (2000) y Pandey et al. (2011), en los aceites esenciales el efecto fumigante se debería a que los compuestos activos volátiles que los conforman bloquean los receptores de la octopamina, afectando el comportamiento y provocando la muerte del insecto. Por todo lo anterior se puede inferir que los tres aceites esenciales presentan condiciones prometedoras como fumigantes, pero especialmente *P. boldus* y *L. sempervirens*, que con las menores concentraciones evaluadas de aceite esencial registraron efecto fumigante significativo.

Al comparar entre estaciones, en el aceite esencial de *L. philippiana* se observaron diferencias significativas en la toxicidad como fumigante en las concentraciones de 15, 20 y 25  $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire, siendo más tóxico el aceite esencial proveniente de follaje colectado en invierno, con mortalidad de 52,5; 97,5 y 100% respectivamente. En el aceite de follaje colectado en primavera se observó que con concentraciones de 20 y 25  $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire se obtiene una toxicidad de 59,25 y 94,87% respectivamente, aunque sin diferencia significativa con las otras estaciones (Cuadro 4). Esto podría deberse al alto porcentaje de safrol reportado por Ortiz et al. (2016) en estas estaciones (32,63% en invierno y 39,56% en primavera), a cuya acción Bittner et al. (2009) y Montenegro et al. (2012) atribuyen actividad fumigante. Este compuesto, de acuerdo con Huang et al. (1999) ha mostrado toxicidad fumigante contra *S. zeamais* y *T. castaneum* y según Zapata et al. (2010) contra *A. pisum*. En las concentraciones de 30 y 35  $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire no se observó diferencia estadística para la toxicidad entre estaciones de colecta, ya que todas presentaron una alta mortalidad. Por todo lo anterior la opción más eficiente es el aceite esencial de *L. philippiana* proveniente de follaje colectado en invierno y a una concentración de 20  $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire.

En cuanto al aceite esencial de *L. sempervirens*, al comparar entre estaciones se observó interacción significativa en las concentraciones de 10 y 15  $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$  de aire. En la primera

resultó más tóxico el aceite esencial proveniente de follaje colectado en verano con una mortalidad de 55,0%, que los colectados en primavera (10%) y otoño (12,8%) ya que en el caso del colectado en invierno (30,6%), este no presentó diferencia significativa con el de verano ni con los de primavera y otoño, por lo que no se consideró en el análisis posterior. A la concentración de 15  $\mu\text{L}$  0,15  $\text{L}^{-1}$  de aire resultaron más tóxicos los aceites esenciales provenientes de follaje colectado en verano (97,5%) e invierno (100%), que los de primavera (57,5%) y otoño (43,6%). Según el análisis fitoquímico (Ortiz et al. 2016) este aceite presenta un alto contenido de safrol en invierno (59,1%) y verano (58,0%), el cual ya se mencionó como responsable de su efecto fumigante; además de una cantidad considerablemente mayor de (E)-germacreno D en verano (2,3%) que en las otras estaciones, lo que coincide con los resultados de mayor actividad fumigante observados. Al respecto Torres et al. (2015); Niemeyer y Teillier (2007); Bittner et al. (2008) y Zapata y Smagghe (2010) coinciden en que la alta toxicidad de *L. sempervirens* probablemente se debe a que su aceite esencial posee un alto contenido de safrol. Sin embargo, (E)-germacreno D es el principal constituyente del aceite esencial de *Annona cherimola* Mill (Annonaceae), el cual es un efectivo insecticida contra larvas y adultos de *Aedes aegypti* (L.) (Ramírez et al., 2012) y según Bekele y Hassanali (2001) usualmente existe un sinergismo entre los componentes de los aceites esenciales, por lo que su uso para control de insectos en forma de aceite sería más eficiente que su principal compuesto aislado. Por tanto, Safrol sumado a (E)-germacreno D podrían ser los causantes del efecto fumigante en el aceite esencial de *L. sempervirens* cuando su follaje se colecta en verano.

En las concentraciones iguales o superiores a 20  $\mu\text{L}$  0,15  $\text{L}^{-1}$  de aire no se observó diferencia estadística de la toxicidad entre estaciones de colecta, ya que todas presentaron una mortalidad cercana o igual a 100% (Cuadro 5). Por todo lo anterior, el tratamiento más eficaz es el aceite esencial de *L. sempervirens* a una concentración de 15  $\mu\text{L}$  0,15  $\text{L}^{-1}$  de aire cuyas hojas se colectaron en verano e invierno.

Al comparar entre estaciones de colecta en el aceite esencial de *P. boldus* se observó interacción significativa en las concentraciones de 5 y 10  $\mu\text{L}$  0,15  $\text{L}^{-1}$  de aire, resultando en el caso de 5  $\mu\text{L}$  0,15  $\text{L}^{-1}$  de aire más tóxico el aceite esencial proveniente de follaje colectado en otoño con una mortalidad de 82,5%, que los colectados en primavera (7,5%) y verano (17,5%). En el caso del colectado en invierno (75%), aunque no presentó diferencia significativa con el de otoño, tampoco tuvo diferencia estadística con el de verano, por lo que no se consideró en el análisis.

A la concentración de 10  $\mu\text{L}$  0,15  $\text{L}^{-1}$  de aire resultó más tóxico el aceite esencial proveniente de follaje colectado en otoño (100%) e invierno (100%), que los colectados en primavera (62,5%) y verano (72,5%). Según Ortiz et al. (2016), el análisis fitoquímico determinó que el principal compuesto encontrado en el aceite esencial de *P. boldus* fue 1-8-cineol, coincidentemente en otoño (35,4%) e invierno (40,0%). Esto concuerda con lo reportado por Vogel et al. (2005), Niemeyer y Teillier (2007) y Urzúa et al., (2010), quienes analizaron la composición del aceite esencial de *P. boldus* encontrando que uno de los compuestos que se encuentra en mayor concentración es 1,8-cineol, al cual Lee et al. (2001 y 2004), le confieren gran potencial como insecticida fumigante para el control de plagas de cereales almacenados. Este compuesto también está presente en el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L., *Eucalyptus blakelyi* Maiden y *Melaleuca fulgens* R. Br., entre otros, los que tienen acción fumigante contra *Tetranychus urticae* Koch (Miresmailli et al., 2006), *Sitophilus oryzae* L., *T. castaneum* y *Rizopertha dominica* F. (Lee et al., 2003). Por tanto, es muy probable que 1-8-cineol sea el causante de la alta toxicidad como fumigante expresada en el aceite esencial de *P. boldus* en otoño e invierno. Con concentraciones iguales o superiores a 15  $\mu\text{L}$  0,15  $\text{L}^{-1}$  de aire no se observó diferencia estadística de toxicidad entre estaciones de colecta, ya que todas presentaron una mortalidad de 100% (Cuadro 6). Por todo lo anterior, el tratamiento más eficiente es el aceite esencial *P. boldus* a una concentración de 10  $\mu\text{L}$  0,15  $\text{L}^{-1}$  de aire cuyas hojas se colectaron en otoño e invierno.

## CONCLUSIONES

Las propiedades insecticidas de contacto y fumigante de los aceites esenciales de *L. sempervirens*, *L. philippiana* y *P. boldus* sobre *S. zeamais* varían de acuerdo a la estación de colecta del follaje. El aceite esencial de *L. philippiana* presenta mayor toxicidad de contacto/fumigante cuando se obtiene de follaje colectado en invierno, *P. boldus* en otoño e invierno y *L. sempervirens* en verano.

## LITERATURA CITADA

Abbott, W. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J Econ. Entomol 18: 265 - 267.

Abebe, F., T. Tefera, S. Mugo, Y. Beyene, and S. Vidal. 2009. Resistance to maize varieties to the maize weevil *Sitophilus zeamais* (Motsch.) (Coleoptera: Curculionidae). *Afric J Biotechnol* 8: 5937 - 5943.

Bekele, J., and A. Hassanali. 2001. Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiataea) on two post-harvest insect pests. *Phytochemistry* 57:385-391.

Betancur, J., G. Silva, C. Rodríguez, S. Fischer, and N. Zapata. 2010. Insecticidal Activity of *Peumus boldus* Molina essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean Journal of Agricultural Research* 3 (70): 399-407.

Bittner, M., M. Casanueva, C. Arbert, M. Aguilera, V. Hernández, and J. Becerra. 2008. Effects of essential oils from five plants species against the granary weevil *Sitophilus zeamais* and *Acanthoscelides obtectus*. *J. Chil. Chem. Soc.* 53: 1455-1459.

Bittner, M., M. Aguilera, V. Hernández, C. Arbert, J. Becerra, and M. Casanueva. 2009. Fungistatic Activity of essential oils extracted from *Peumus boldus* Mol., *Laureliopsis philippiana* (Looser) Schodde and *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul. (Chilean Monimiaceae). *Chilean Journal of Agricultural Research* 69:30-37.

Budnik, L., S. Kloth, M. Velasco-Garrido, and X. Baur. 2012. Prostate cancer and toxicity from critical use exemptions of methyl bromide: Environmental protection helps protect against human health risks. *Environm Health* 11:5. DOI: 10.1186/1476-069X-11-5

Calvert, G., G. Talaska, C. Mueller, M. Ammenheuser, W. Au, J. Fajen, L. Fleming, T. Briggie, and E. Ward. 1998. Genotoxicity in workers exposed to methyl bromide. *Mut Res* 417: 115 - 128.

Chu, S., Q. Liu, G. Jiang, and Z. Liu. 2011. Chemical composition and insecticidal activity of the essential oil of *Amethystea caerulea* L. *Natural Product Research*, p. 1–6.



Huang, Y., H. Shuit, and R. Manjunatha. 1999. Bioactivities of safrole and isosafrole on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Econ. Entomol* 92: 676 - 683.

Huang, Y., H. Ho, H. Lee, and Y. Yap. 2002. Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum*. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Product Research* 38:403-412.

Huang, F., and B. Subramanyam. 2005 Management of five stored-product insects in wheat with pirimiphosmethyl and pirimiphos-methyl plus synergized pyrethrins. *Pest Management Science* 61:356-362.

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

Larraín, P. 1994. Manejo integrado de plagas en granos almacenados. *IPA, La Platina* 81: 10 - 16.

Lee, B., W. Choi, S. Lee, and B. Park. 2001. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae*. *J Crop Prot Res* 20: 317 - 320.

Lee, B.H., P. Annis, F. Tumaalii, and S. Lee. 2003. The potential of 1,8-cineole as a fumigant for stored wheat. p. 230-234. *In Proceedings of the Australian Postharvest Technical Conference, Canberra. 25-27 June 2003. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO), Canberra, Australia.*

Lee, B., P. Annis, F. Tumaalii, and W. Choi. 2004. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-Cineole against 3 major stored-grain insects. *Journal of Stored Product Research* 40: 553 - 564.

Miresmailli, S., R. Bradbury, and M. Isman. 2006. Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. *Pest Management Science* 62:366-371.

Montenegro, I., A. Madrid, L. Zaror, R. Martínez, E. Werner, and H. Carrasco-Altamirano. 2012. Antimicrobial activity of ethyl acetate extract and essential oil from bark of *Laurelia sempervirens* against multiresistant bacteria. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas (BLACPMA)*. 11:306-315.

Niemeyer, H., y S. Teillier. 2007. Aromas de la flora nativa de Chile. Universidad de Chile-Fundación para la Innovación Agraria (FIA), Santiago, Chile.

Nuñez, P., G. Silva, M. Tapia, R. Hepp, J.C. Rodríguez, y A. Lagunes. 2010. Toxicidad de polvos de follaje de Paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y Boldo (*Peumus boldus* Mol.) solos y en mezcla con carbonato de calcio sobre el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky). *Agro-Ciencia Rev Chil Cs Agropec* 26: 71 - 80.

Obeng-Oferi, D., C. Reichmuth, A. Bekeles, and A. Hassanali. 1998. Toxicity and protectant potential of camphor, a major component of essential oil of *Ocimum kilimandscharicum*, against four stored product beetles. *Int. J. Pest Manag.* 44(4): 203-209.

Ortiz, A., G. Silva, A. Urbina, N. Zapata, J.C. Rodríguez, and A. Lagunes. 2012. Bioactivity of Tepa (*Laureliopsis philippiana* (Looser) Shodde) powder to *Sitophilus zeamais* Motschulsky control in laboratory. *Chilean Journal of Agricultural Research* 72(1): 68-73

Ortiz, C., G. Silva, J.C. Rodríguez, S. Fischer y E. Moya. 2016. Variación estacional de la repelencia de los aceites esenciales de *Peumus boldus* Molina, *Laurelia sempervirens* Tul y *Laureliopsis philippiana* Looser (monimiaceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean Journal of Agricultural Research*: sometido

Pandey, A., P. Singh, U. Palni, and N. Tripathi. 2011. Use of essential oils of aromatic plants for the management of pigeon pea infestation by pulse bruchids during storage. *IJAT* 7(6): 1615-1624.

Pérez, F., G. Silva, M. Tapia, y R. Hepp. 2007. Variación anual de las propiedades insecticidas de *Peumus boldus* sobre *Sitophilus zeamais*. *Pesq Agrop Bras* 42: 633 - 639.

Pizarro, D., G. Silva, M. Tapia, J.C. Rodriguez, A. Urbina, A. Lagunes, C. Santillán-Ortega, A. Robles-Bermúdez, and S. Aguilar-Medel. 2013. Insecticidal activity of *Peumus boldus* Molina (Monimiaceae) powder against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas (BLACPMA)*. 12(4): 420-430.

Popovic, Z., M. Kostic, S. Popovic, and S. Skoric. 2006. Bioactivities of essential oils from basil and sage to *Sitophilus oryzae* L. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 20:36-40.

Ramírez R., F. Mora, J. Avila, L. Rojas, A. Usubillaga, S. Segnini, y J. Carmona. 2012. Composición química y actividad larvicida del aceite esencial de *Annona cherimola* Mill. de Los Andes venezolanos contra el mosquito *Aedes aegypti* (L.). *Revista de la Facultad de Farmacia* 53:2-6.

Rodríguez, C., G. Silva, y J. Vendramim. 2003. Insecticidas de origen vegetal. In: Silva, G., y R. Hepp. (Ed.). *Bases para el manejo racional de insecticidas*. Chillán: Universidad de Concepción/ Fundación para la Innovación Agraria, p. 87-112.

Rodríguez, R., E. Ruiz, y J.P. Elissetche. 2005. *Árboles en Chile*. Editorial Universidad de Concepción. Concepción. Chile.

Roel, A., e J. Vendramim. 2006. Efeito residual do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) para lagartas de diferentes idades de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Ciencia Rural* 36: 1049 - 1054.

Silva G, A. Lagunes, y JC. Rodríguez. 2003a. Control de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) con polvos vegetales solos y en mezcla con carbonato de calcio en maíz almacenado. *Ciencia e Investigación Agraria* 30: 153 - 160.

Silva G, D. Pizarro, P. Casals, y M. Berti. 2003b. Evaluación de plantas medicinales en polvo para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky en maíz almacenado. *Current Agricultural Science and Technology* 9: 383 - 388.

Silva, G., O. Orrego, R. Hepp, M. Tapia. 2005. Búsqueda de plantas con propiedades insecticidas para el control de *Sitophilus zeamais* en maíz almacenado. *Pesq Agrop Bras* 1(40):11-17.

Torres, C., G. Silva, M. Tapia, J.C. Rodríguez, A. Urbina, I. Figueroa, A. Lagunes, C. Santillán-Ortega, A. Robles, S. Aguilar, and I. Tucuch. 2014. Insecticidal activity of *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul. essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean Journal of Agricultural Research* 74(4): 421-426.

Torres, C., G. Silva, M. Tapia, J.C. Rodríguez, A. Urbina, I. Figueroa, A. Lagunes, C. Santillán-Ortega, A. Robles, y S. Aguilar. 2015. Propiedades insecticidas del polvo de *Laurelia sempervirens* L. para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleóptera: Curculionidae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas (BLACPMA)* 14 (1): 48 – 59.

Urzúa A, R. Santander, J. Echeverría, C. Villalobos, S. Palacios, and Y. Rossi. 2010. Insecticidal properties of *Peumus boldus* Mol. essential oil on the house fly, *Musca domestica* L. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas (BLACPMA)* 9: 465 - 469.

Vogel, H., I. Razmilic, y U. Doll. 1997. Contenido de aceite esencial y alcaloides en diferentes poblaciones de boldo. *Ciencia e Investigación Agraria*, 24:1-6.

Vogel, H., I. Razmilic, J. San Martín, U. Doll, y B. González. 2005. Plantas medicinales chilenas. 192 p. Editorial Universidad de Talca, Talca, Chile.

White, D., and J. Leesch. 1996. Chemical control. In: Subramanyam, B.; Hagstrum, D. (Ed.). Insects in stored products. New York: M. Dekker. p.287-330.

Zapata, N., and G. Smaghe. 2010. Repellency and toxicity of essential oils from the leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneum*. Ind Crops Prod 32: 405 - 410.

Zapata, N., G. Lognay, and G. Smaghe. 2010. Bioactivity of essential oils from leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Acyrtosiphon pisum*. Pest Manag Sci 66: 1324 - 1331.



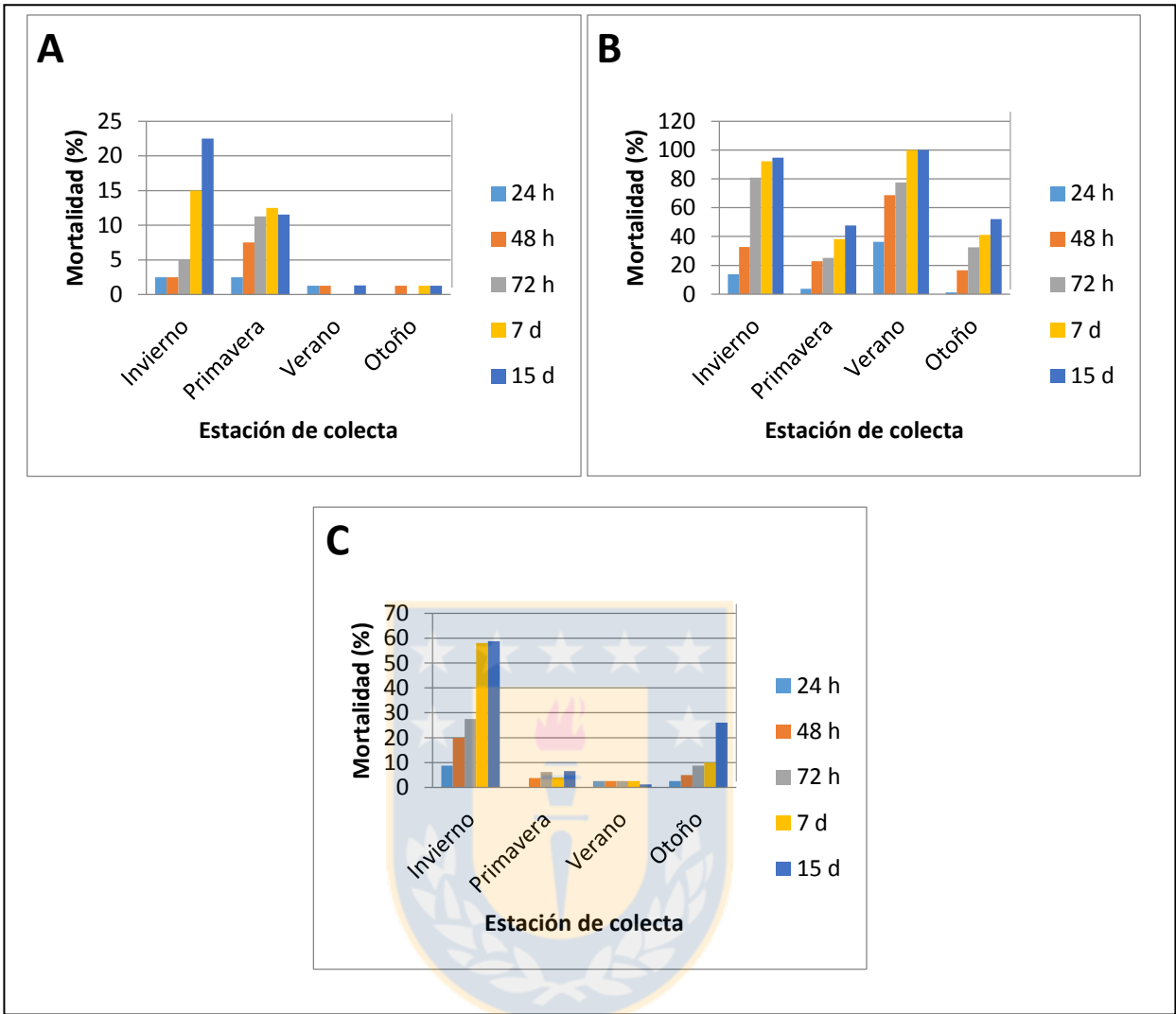


Figura 1. Mortalidad por contacto con grano tratado a las 24, 48, 72 h y 7 y 15 días después de la infestación de tres aceites esenciales al 2% sobre *S. zeamais* adultos. A.- *L. philippiana*, B.- *L. sempervirens* y C.- *P. boldus*.

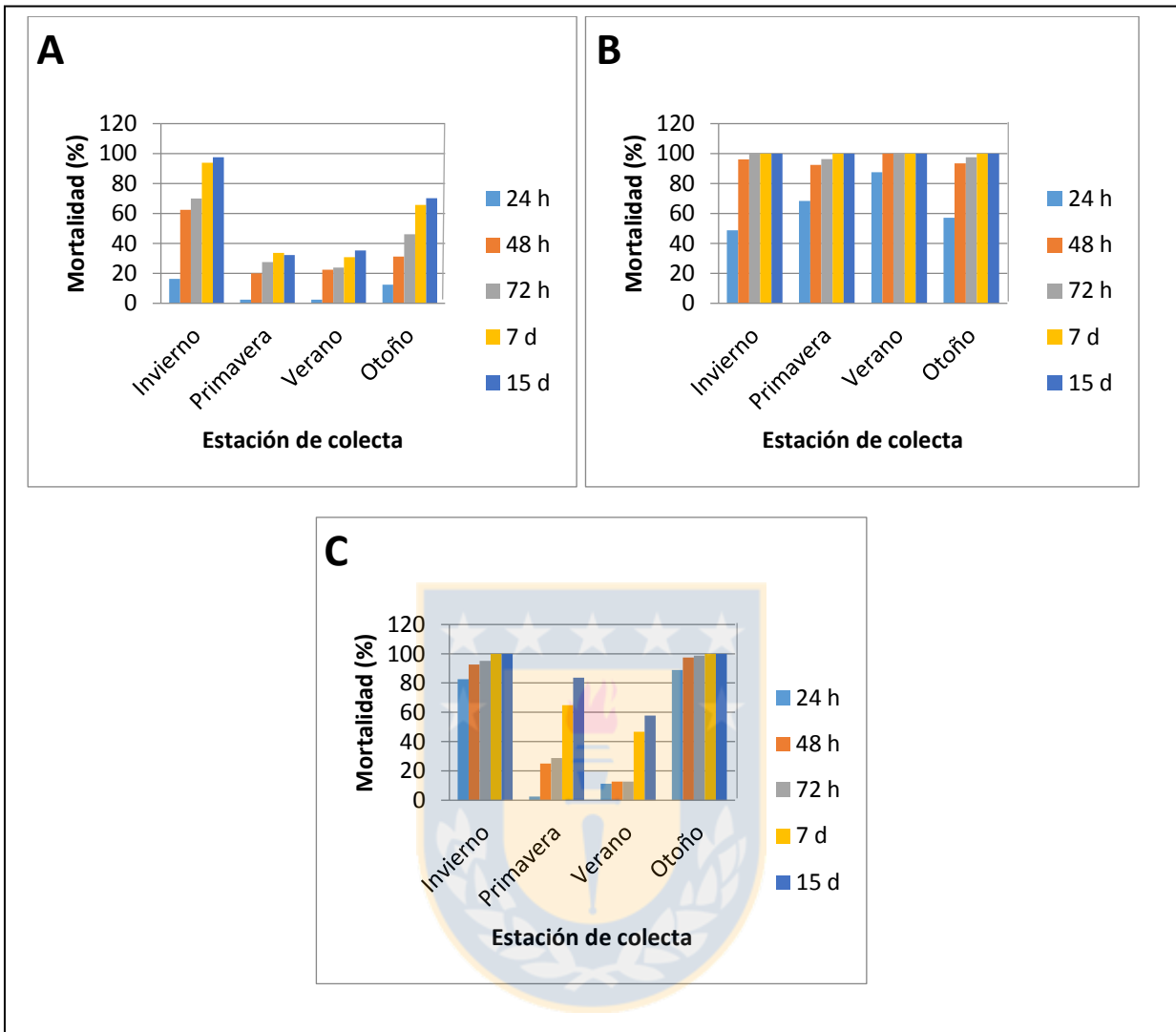


Figura 2. Mortalidad por contacto con grano tratado a las 24, 48, 72 h y 7 y 15 días después de la infestación de tres aceites esenciales al 4% sobre *S. zeamais* adultos. A.- *L. philippiana*, B.- *L. sempervirens* y C.- *P. boldus*.

Cuadro 1. Mortalidad por contacto con grano tratado con aceite esencial de *L. philippiana* sobre *S. zeamais* adultos a los 15 días después de la infestación.

Concentración (%)	Estación			
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
	Mortalidad (%)			
0,25	1,25 Ab*	10,00 Ab	1,25 Aa	0,00Ab
0,5	0,00 Bb	6,25 Ab	11,25 Aa	0,00 Bb
1,0	1,25 Ab	8,75 Ab	7,83 Aa	0,00 Ab
2,0	1,25 Bb	22,50 Aab	11,51 ABa	1,32 Bb
4,0	70,15 ABa	97,50 Aa	32,17 Ba	35,38 Ba

\*Prueba de Kruskal Wallis. Dentro de la misma fila, los valores con la misma letra mayúscula y dentro de la misma columna, los valores con la misma letra minúscula no son significativamente diferentes entre sí ( $p>0,05$ ).

Cuadro 2. Mortalidad por contacto con grano tratado con aceite esencial de *L. sempervirens* sobre *S. zeamais* adultos a los 15 días después de la infestación.

Concentración (%)	Estación			
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
	Mortalidad (%)			
0,25	0,00 Ac*	0,00 Ac	3,75 Ac	2,50 Ab
0,5	0,00 Ac	0,00 Ac	1,25 Ac	1,25 Ab
1,0	3,75 Abc	9,02 Abc	9,31 Abc	26,25 Aab
2,0	51,99 BCab	94,73 ABab	47,68 Cab	100,00 Aa
4,0	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa

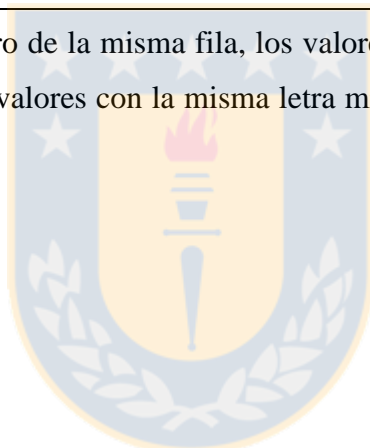
\*Prueba de Kruskal Wallis. Dentro de la misma fila, los valores con la misma letra mayúscula y dentro de la misma columna, los valores con la misma letra minúscula no son significativamente diferentes entre sí ( $p>0,05$ ).



Cuadro 3. Mortalidad por contacto con grano tratado con aceite esencial de *P. boldus* sobre *S. zeamais* adultos a los 15 días después de la infestación.

Concentración (%)	Estación			
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
	Mortalidad (%)			
0,25	0,00 Ac*	5,00 Ac	6,58 Ab	1,25 Ab
0,5	1,25 Bbc	21,58 Abc	2,63 ABb	6,25 ABb
1,0	1,32 Bbc	13,95 Abc	0,00 Bb	5,00 ABb
2,0	26,02 ABab	58,75 Aab	6,58 Bab	1,25 Bb
4,0	100,00 Aa	100,00 Aa	83,59 ABa	57,70 Ba

\*Prueba de Kruskal Wallis. Dentro de la misma fila, los valores con la misma letra mayúscula y dentro de la misma columna, los valores con la misma letra minúscula no son significativamente diferentes entre sí ( $p > 0,05$ ).



Cuadro 4. Mortalidad de *S. zeamais* adultos por actividad fumigante de aceite esencial de *L. philippiana* a los 5 días después de la infestación.

	Estación			
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
Concentración ( $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$ de aire)	Mortalidad (%)			
5	1,75 Ac*	2,50 Ac	0,00 Ac	10,00 Ac
10	1,75 Ac	30,00 Ac	6,50 Ac	7,50 Ac
15	10,25 Bbc	52,50 Abc	31,88 ABbc	32,50 ABbc
20	30,00 Babc	97,50 Aab	59,25 ABabc	40,00 Babc
25	76,50 Bab	100,00 Aa	94,87 ABab	62,50 Bab
30	98,25 Aa	97,50 Aab	98,25 Aa	80,00 Aab
35	78,75 Aa	97,50 Aab	100,00 Aa	95,00 Aa

\*Prueba de Kruskal Wallis. Dentro de la misma fila, los valores con la misma letra mayúscula y dentro de la misma columna, los valores con la misma letra minúscula no son significativamente diferentes entre sí ( $p > 0,05$ ).

Cuadro 5. Mortalidad de *S. zeamais* adulto por actividad fumigante de aceite esencial de *L. sempervirens* a los 5 días después de la infestación.

	Estación			
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
Concentración ( $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$ de aire)	Mortalidad (%)			
5	15,28 Ab*	2,50 Ab	10,00 Ab	12,50 Ac
10	12,78 Bb	30,56 ABb	10,00 Bb	55,00 Abc
15	43,61 Bab	100,00 Aa	57,50 Bab	97,50 Aab
20	87,50 Aa	100,00 Aa	97,50 Aa	100,00 Aa
25	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
30	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
35	97,22 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa

\*Prueba de Kruskal Wallis. Dentro de la misma fila, los valores con la misma letra mayúscula y dentro de la misma columna, los valores con la misma letra minúscula no son significativamente diferentes entre sí ( $p > 0,05$ ).

Cuadro 6. Mortalidad de *S. zeamais* adultos por actividad fumigante de aceite esencial de *P. boldus* a los 5 días después de la infestación.

	Estación			
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
Concentración ( $\mu\text{L } 0,15 \text{ L}^{-1}$ de aire)	Mortalidad (%)			
5	82,50 Ab*	75,00 ABb	7,50 Cc	17,50 BCb
10	100,00 Aa	100,00 Aa	62,50 Bbc	72,50 Bb
15	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
20	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00Aa	100,00 Aa
25	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
30	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
35	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa

\*Prueba de Kruskal Wallis. Dentro de la misma fila, los valores con la misma letra mayúscula y dentro de la misma columna, los valores con la misma letra minúscula no son significativamente diferentes entre sí ( $p > 0,05$ ).

## CAPÍTULO II

### VARIACIÓN ESTACIONAL DE LA REPELENCIA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Peumus boldus* Molina, *Laurelia sempervirens* Tul Y *Laureliopsis philippiana* Looser (MONIMIACEAE) SOBRE *Sitophilus zeamais* Motschulsky

SEASONAL VARIATION OF REPELLENCY OF ESSETIAL OILS OF *Peumus boldus* Molina, *Laurelia sempervirens* Tul AND *Laureliopsis philippiana* Looser (MONIMIACEAE) AGAINST *Sitophilus zeamais* Motschulsky

C. Ortiz<sup>2</sup>, G. Silva<sup>2\*</sup>, E. Moya<sup>2</sup>, S. Fischer<sup>2</sup>, A. Urbina<sup>2</sup>, J.C. Rodríguez<sup>3</sup>

<sup>2</sup>Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Vicente Méndez 595, Chillán, Chile.

<sup>3</sup>Programa de Entomología y Acarología. Colegio de Postgraduados. Km 36,5 Carretera Federal. México-Texcoco. Montecillo. Estado de México. México.

\*Autor para correspondencia: gosilva@udec.cl

Artículo enviado a la revista Chilean Journal of Agricultural and Animal Science

#### RESUMEN

*Sitophilus zeamais*, es una plaga primaria de los cereales almacenados y su control se realiza principalmente con insecticidas sintéticos, lo que provoca efectos negativos en el ambiente y riesgo de desarrollo de resistencia. Una alternativa de control son los insecticidas vegetales entre los que destacan los aceites esenciales. En Chile, los mejores resultados se han obtenido con *Peumus boldus*, *Laurelia sempervirens* y *Laureliopsis philippiana*. Sin embargo, se desconoce el efecto de la estacionalidad sobre su actividad insectistática, por lo que el objetivo fue evaluar, en laboratorio, la actividad repelente de estos tres aceites esenciales sobre *S. zeamais*. El análisis fitoquímico por estación del año mostró que los principales componentes de *P. boldus* fueron 1-8-cineol (14,9 a 40%) y Ascaridol (24,37%). A su vez, en *L. sempervirens* destacaron Metil-eugenol (4,6 a 39,7%) y Safrol (38,5 a 64,7%). En *L. philippiana* los principales constituyentes fueron Safrol (17 a 39,6%) y Linalool (0,9 a 34,5%). Salvo *L. philippiana* y *P. boldus* en

concentraciones de 0,125 y 0,25 %, todos los tratamientos presentaron acción repelente, resultando las concentraciones iguales o mayores a 4% las con mayor actividad. Sólo en el aceite esencial de *L. sempervirens* se observó efecto estacional, resultando más repelente el proveniente de follaje colectado en verano. Al no existir efecto estacional para los aceites esenciales de *P. boldus* y *L. philippiana* se concluye que estos tienen perspectivas promisorias para el control de plagas de los granos almacenados durante todo el año.

**Palabras clave:** antixenosis, insecticidas vegetales, gorgojo del maíz, terpenos.

### ABSTRACT

*Sitophilus zeamais* is an important pest of stored cereals, and its control is usually performed with synthetic insecticides which cause negative effects on the environment and risk of development of resistance. The use of botanical insecticides among them, the essential oils is a viable alternative. In Chile the best results have been obtained with *Peumus boldus*, *Laurelia sempervirens* and *Laureliopsis philippiana*. However, it is unknown the effect of seasonality on its insectistatic activity so that the objective was to assess, under laboratory conditions, the repellent activity of these three essential oils against *S. zeamais*. The phytochemical analysis by season showed that main components of *P. boldus* were 1-8-cineole (14.9 to 40%) and Ascaridole (24.37%). At the same time in *L. sempervirens* highlighted Methyl-eugenole (4.6 to 39.7%) and Safrole (38.5 to 64.7%). In *L. philippiana* the principal constituents were Safrole (17 to 39.6%) and Linalool (0.9 to 34.5%). Except for *L. philippiana* and *Peumus boldus* in concentrations of 0.125 and 0.25% all treatments showed repellency resulting concentrations similar or superior to 4% were with more activity. Only the essential oil of *L. sempervirens* was observed a seasonal effect resulting in more repellent the essential oil from summer foliage. The absence of seasonal effect in the essential oils of *P. boldus* and *L. philippiana* we concluded that these have perspectives to stored grains pest control during all year.

**Key words:** antixenosis, botanical insecticides, maize weevil, terpenoids

## INTRODUCCIÓN

El gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky; Coleoptera; Curculionidae) es considerado mundialmente como plaga primaria de los cereales en postcosecha. Este insecto es capaz de infestar los cereales antes de la cosecha y si en el almacenaje no se toman medidas de control, en seis meses, puede causar la completa destrucción de los granos (Tefera et al. 2011). El principal daño lo provocan adultos y larvas al alimentarse del endosperma de la semilla. Además, su respiración provoca aumento de la temperatura y permite el ataque de plagas secundarias u hongos (Larraín, 1994).

El método de control más recurrido para insectos plaga de los granos almacenados son los insecticidas sintéticos. Sin embargo, *S. zeamais* ya cuenta con reportes de resistencia a insecticidas organofosforados (Evans, 1985; Pérez-Mendoza, 1999), piretroides (Ribeiro et al. 2003) y a fosfuro de aluminio (Pimentel et al. 2009), lo que ha incentivado la búsqueda de métodos alternativos de control, como son los productos naturales. Entre estos se destacan los insecticidas de origen vegetal (Roel y Vendramim, 2006) pero, la gran mayoría de plantas conocidas por estas propiedades no se encuentran en Chile, por lo que se hace necesario investigar si especies nativas presentan este tipo de actividad biológica (Pizarro et al. 2013). Bittner et al. (2008) señalan que las plantas aromáticas son las que han mostrado los mejores resultados, en especial las de la familia Monimiaceae. En Chile, esta familia presenta solo tres especies nativas: *Peumus boldus* Molina (Boldo), *Laurelia sempervirens* (Ruiz et Pau.) Tul (Laurel) y *Laureliopsis philippiana* Looser (Tepa) (Rodríguez et al. 2005). En relación a estas Betancur et al. (2010) y Bittner et al. (2008), han reportado efecto insecticida de contacto y fumigante además de actividad repelente del aceite esencial de *P. boldus* contra *S. zeamais* y *A. obtectus*. Bittner et al. (2008) y Zapata y Smagghe (2010) señalan que el aceite esencial de *L. sempervirens* presenta efecto insecticida fumigante sobre *A. obtectus*, y *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), respectivamente. A pesar de que no existen estudios sobre la acción tóxica del aceite esencial de *L. philippiana*, Ortiz et al. (2012) señalan que el polvo de hojas deshidratadas de esta planta presenta toxicidad de contacto y repelencia sobre *S. zeamais*.

El efecto repelente de una sustancia se debe a un efecto de antixenosis, la cual es una respuesta defensiva, física o química, de las plantas contra los herbívoros que se activa directamente o a distancia reduciendo la posibilidad de una plaga para utilizar la planta como hospedero para vivir, oviponer o alimentarse (Fancelli et al. 2005, Castro et al. 2011). En los sistemas químicos de

antixenosis están involucrados metabolitos secundarios (Nerio et al. 2010), los cuales según Rodríguez et al. (2003) evitan que el insecto responda positivamente al estímulo olfativo, afectando el encuentro y reconocimiento del hospedero y por tanto causando la repelencia. Sin embargo, a pesar de los alentadores resultados, los insecticidas de origen vegetal presentan variabilidad en cuanto al tipo, número y concentración de sus compuestos químicos (Rodríguez et al. 2003), debido fundamentalmente a factores como época del año, ubicación geográfica y estado fenológico del material colectado. Por tanto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la variación estacional en las propiedades como repelente del aceite esencial de *P. boldus*, *L. sempervirens* y *L. philippiana* sobre adultos de *S. zeamais*, en condiciones de laboratorio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Laboratorio de Entomología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Campus Chillán, Región del Bío-Bío, Chile.

### **Insectos**

Los ejemplares de *S. zeamais* se colectaron de cereales desechados por los vendedores del mercado de frutas y hortalizas de Chillán y se mantuvieron en frascos de vidrio de 1 L con maíz (*Zea mays* L.) Dekalb Cv DK 440, como sustrato alimenticio, en condiciones controladas de  $25\pm 1$  °C de temperatura, humedad relativa de  $65\pm 5$  % y 12:12 h luz:oscuridad de fotofase en una cámara bioclimática (IPS 749, Memmert GmbH, Schwabach, Germany). La identificación taxonómica de los insectos se confirmó por análisis morfológico utilizando la colección de referencia del Departamento de Zoología de la Facultad de Recursos Naturales y Oceanográficos de la Universidad de Concepción.

### **Material vegetal**

El follaje de *P. boldus* y *L. sempervirens* se obtuvo en la zona de Los Lleuques (36°51'18"S, 71°38'34"W, 286 msnm) provincia de Ñuble, Región del Bío-Bío, Chile, mientras que *L. philippiana* se colectó en la provincia de Maullín (41°41'S, 73°25'W, 28 msnm), Región de Los Lagos. La colecta se realizó en estas zonas debido a que están libres de polución y estudios preliminares de Ortiz et al. (2012) y Pérez et al. (2007) mostraron resultados prometedores con



material vegetal colectado en estos sectores. La extracción de follaje se realizó de acuerdo al criterio de Vogel et al. (1997) consistente en coleccionar a una altura constante del árbol y de los cuatro puntos cardinales. Las hojas se coleccionaron durante un año, abarcando todas las estaciones: otoño, invierno, primavera y verano y siempre en el mismo grupo de árboles, que se marcaron con estacas para facilitar su ubicación. La identificación botánica se corroboró por análisis anatómico, comparándolo con muestras depositadas en el herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, campus Chillán, Chile. En laboratorio, el material se deshidrató en un horno de convección forzada (Memmert GmbH, UNB 500, Schwabach, Germany) a  $40 \pm 5$  °C por 72 h. Una vez deshidratado el follaje, el aceite esencial se obtuvo por hidrodestilación mediante arrastre de vapor en un aparato tipo Clevenger por 3 h (Chu et al., 2011). Finalmente, se eliminaron los residuos de agua del aceite esencial con sulfato de sodio anhídrido y luego se almacenó en frascos de vidrio ámbar a  $4 \pm 1$  °C en un refrigerador.

El análisis fitoquímico de los aceites esenciales de cada estación se realizó en el Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción a través de cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (GC-MS) utilizando un cromatógrafo de alta resolución (HPGC -MS, Hewlett Packard series II 5890).

### **Repelencia**

La repelencia se evaluó con la metodología de Mazzonetto y Vendramim (2003) con modificaciones. La unidad experimental consistió en una “arena de libre elección” formada por cinco placas Petri plásticas de 5 cm de diámetro estando una placa central conectada a las otras cuatro a través de tubos plásticos de 10 cm de longitud y 0,5 cm de diámetro formando una “X”. En las placas periféricas se colocaron 20 g de maíz, pero sólo en dos placas simétricamente opuestas se colocó maíz impregnado con las concentraciones de aceite esencial a evaluar. A continuación, en la placa central se liberaron 50 insectos adultos sin diferenciación de sexo de 48 h de edad. La unidad experimental se mantuvo en una cámara bioclimática por 24 h a una temperatura de  $25 \pm 1$  °C y transcurrido este tiempo se contabilizaron los insectos presentes en cada placa. Luego, con estos resultados se calculó el índice de repelencia (IR) de Mazzonetto y Vendramim (2003) que clasifica un tratamiento como neutro si el índice es igual a 1, atrayente si es mayor a 1 y repelente si es menor a 1. Aunque, para calificar de manera más precisa los tratamientos considerados repelentes, se elaboró una escala que los categoriza desde sin

repelencia hasta con repelencia muy alta (Cuadro 1). Las concentraciones evaluadas fueron 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4 y 8 % de aceite esencial en 1 mL de acetona. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones y en cada repetición los tratamientos se rotaron aleatoriamente para evitar interferencias de factores externos como luz o temperatura.

### **Diseño experimental y análisis estadístico**

El diseño experimental fue completamente al azar con un arreglo factorial de 4x7 (cuatro estaciones del año y siete concentraciones de aceite esencial). Los datos se analizaron con el software InfoStat® y para que los resultados obtenidos siguieran una tendencia normal, estos se transformaron con la fórmula  $(X+0,5)^{0,5}$  (Gómez y Gómez, 1984). Luego se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) para evaluar el efecto de los tratamientos y en aquellos casos en que se observó diferencia significativa ( $p < 0,05$ ), se realizó una prueba de comparación de medias de Tukey con una significancia de un 5%.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El análisis fitoquímico determinó que el principal compuesto del aceite esencial de *P. boldus* fue 1-8-cineol (35,4% otoño; 40,0% invierno; 14,9% primavera y 32,3% verano), seguido de Ascaridol (24,4%) aunque este sólo se encontró en primavera (Cuadro 2). En el aceite esencial de *L. sempervirens* no se detectó Ascaridol y 1-8-cineol sólo se registró en otoño y primavera en concentraciones inferiores a 2%. Los compuestos en mayor concentración fueron Metil-eugenol (39,7% otoño; 28,5% invierno; 14,6% primavera y 20,5% verano) y Safrol (38,5% otoño; 59,1% invierno; 64,7% primavera y 58,0% verano). Este último metabolito secundario también se encontró en concentraciones significativas en *L. philippiana* (29,9% otoño; 32,6% invierno; 39,6% primavera y 17,0% verano), pero a la vez se reportó la presencia de linalool en alta proporción (29,8% otoño; 27,4% invierno; 34,5% primavera y 0,9% verano) (Cuadro 2).

En cuanto a la actividad repelente con los tres aceites esenciales evaluados se observó la tendencia de que la repelencia aumenta cuando se incrementa la concentración, obteniéndose un efecto significativamente mayor con concentraciones iguales o superiores a 4%. Las concentraciones entre 0,125 y 2 % resultaron ser neutras o con repelencia débil, y aunque con la concentración de 2% en los aceites provenientes de las cuatro estaciones del año se obtuvo repelencia moderada (0,51-0,75) (Cuadro 1) estos no presentaron diferencia estadística con

concentraciones menores con índices de repelencia cercanos o superiores a 1 (Cuadro 3). Estos resultados coinciden con Ortiz et al. (2012), en que a pesar de que todas las concentraciones de polvo de *L. philippiana* resultaron repelentes, las mayores concentraciones tuvieron un índice menor, demostrando mayor efecto que las dosis más bajas. Por otra parte Zapata y Smaghe (2010) evaluaron el aceite esencial de hojas y corteza de *L. sempervirens* obteniendo una fuerte repelencia sobre *T. castaneum*. Los resultados también concuerdan con Pizarro et al. (2013), Cruzat et al. (2009) y Nuñez et al. (2010), quienes concluyeron que si bien todas las concentraciones de polvo de *P. boldus* presentan efecto repelente, con las mayores se obtiene un mayor efecto. Sin embargo, Pizarro et al. (2013) señalan que incluso las concentraciones más bajas de polvo (0,125; 0,25 y 0,5% (p/p)) son capaces de mantener al insecto alejado del grano evitando posibles reinfestaciones, lo que no ocurrió con el aceite esencial, ya que con esta para tener un efecto repelente significativo fue necesario utilizar al menos una concentración de 4%. La diferencia entre estos antecedentes y el presente estudio, es que en esta investigación se analizaron estadísticamente los datos pudiéndose discriminar entre concentraciones, encontrándose que aun cuando con tratamientos inferiores a 4% se observó repelencia moderada, estos no presentaron diferencia significativa con concentraciones que no provocaron repelencia. Por tanto, es recomendable utilizar aceite esencial de *L. philippiana*, *L. sempervirens* o *P. boldus* en concentraciones no inferiores a 4% para conseguir una repelencia significativa.

La actividad repelente obtenida en *L. sempervirens* y *L. philippiana* se puede deber al alto contenido de Safrol y Metil-eugenol y en *L. philippiana* de Safrol potenciado con Linalool. Al respecto Torres et al. (2015), Niemeyer y Teillier (2007), Bittner et al. (2008) y Zapata y Smaghe (2010) también señalan que la actividad biológica de *L. sempervirens* probablemente se debe a que su aceite esencial posee un alto contenido de Safrol. Además según Ngoh et al. (1998), indican que Safrol es un repelente poderoso contra ninfas de *Periplaneta americana* (L.) (Blattodea: Blattidae). Sobre Metil-eugenol, presente abundantemente en *L. sempervirens*, no existen mayores antecedentes pero Wu et al. (2015) señalan que el aceite esencial de *Liriope muscari* Bailey, que presenta un 42.2% de Metil-eugenol, posee una fuerte repelencia contra *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae), *Liposcelis bostrychophila* Badonnel (Psocoptera: Liposcelididae) y *T. castaneum*. Igualmente Ngoh et al. (1998) señala que Metil-eugenol presenta propiedades repelentes contra ninfas de *P. americana* pero menores a las de Safrol.

En el caso de *L. philippiana*, Safrol se podría potenciar con Linalool, el cual individualmente ha mostrado efecto repelente contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (Müller et al. 2009), *S. zeamais* (Cansian et al. 2015), *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) (Mao-xin et al. 2004) y *Lycorma delicatula* (White) (Hemiptera: Fulgoridae) (Yoon et al 2011).

En cuanto a la actividad repelente de *P. boldus*, sólo predominó el compuesto 1-8 cineol en todas las estaciones, ya que ascaridol se encuentra presente únicamente en el aceite cuyo material vegetal se colectó en primavera, por lo que es probable que no sea determinante en su actividad disuasiva. Sobre 1-8 cineol como compuesto individual, Obeng-Ofori et al. (1997) reportaron actividad repelente contra *S. zeamai* y *S. granarius*, mientras Klocke et al. (1987) encontraron repelencia sobre *A. aegypti*. Como componente predominante de un aceite esencial se reportó efecto contra *S. zeamais* (Ukeh et al. 2009), *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae) (Traboulsi et al. 2005), *Neotoxoptera formosana* (Takahashi) (Homoptera:Aphididae) (Hori and Komatsu, 1997) y *T. castaneum* (Wang et al 2006).

Únicamente *L. sempervirens* registró interacción significativa entre la estacionalidad y la concentración, observándose diferencias estadísticas entre el aceite esencial extraído en verano en las concentraciones de 2 y 4% con los restantes tratamientos y estaciones del año (Cuadro 4). Estas dos concentraciones registraron un índice de repelencia cercano a 0, lo que de acuerdo al cuadro 1 implica una repelencia muy alta. La repelencia obtenida con 8% aunque también muestra actividad el efecto es significativamente menor que 2 y 4%. Esto podría deberse a un efecto de saturación en los sentidos de *S. zeamais* lo cual le hace tener un comportamiento errático y además Franzios et al. (1997) indican que la toxicidad de los aceites esenciales no siempre presenta una relación lineal con la concentración de los principales componentes. Con respecto a los aceites esenciales de *L. sempervirens* extraídos en otoño, primavera e invierno, en estas mismas concentraciones, registraron índices de repelencia cercanos a 1 correspondientes a una repelencia débil. En los tratamientos de 0,125 a 1%, no se observó diferencia estadística en los valores del índice de repelencia para las diferentes estaciones del año en que se extrajo follaje, fluctuando entre 0,64 y 1,22, que implica repelencia moderada a nula. En el caso de 8%, a pesar de que en todas las estaciones de extracción se obtuvo un índice de repelencia igual o menor a 0,5, que corresponde a repelencia alta, no se observó diferencia estadística entre estaciones (Cuadro 3). Los resultados concuerdan con Torres et al. (2015), quienes concluyeron que aunque no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos, las mayores concentraciones de

polvo de *L. sempervirens* presentaron mayor efecto repelente. Igualmente Torres et al. (2014) tampoco reportaron diferencias al evaluar la repelencia de diferentes concentraciones de aceite esencial de *L. sempervirens* sobre *S. zeamais*, aunque no se indica la época de extracción. Por tanto, los resultados obtenidos con los aceites de las diferentes estaciones corroboran la importancia que tiene el especificar la época de colecta del follaje para obtener un efecto repelente significativo del aceite esencial de *L. sempervirens*. Sin embargo, aunque la tendencia obtenida en los resultados indica que con las concentraciones más altas no es significativa la temporada de colecta del follaje, lo ideal es utilizar la menor concentración posible, por lo que la mejor alternativa corresponde a aceite esencial a una concentración de 2% y extraído de follaje colectado en verano. Este resultado es relevante para los productores de cereales de la zona sur de Chile donde *L. sempervirens* es más abundante que *P. boldus*, junto con que el período de cosecha de cereales corresponde a fines de verano coincidiendo en que el follaje de *L. sempervirens* produce el aceite esencial con mayor efecto repelente. Además, los costos serían menores, ya que no será necesario almacenar hojas o aceite esencial y por lo mismo no se perderá actividad biológica, pues según Betancurt et al. (2010) el efecto antixenótico de los aceites esenciales disminuye gradualmente en el tiempo por volatilidad y fotodegradación.

Una explicación a la variación estacional obtenida en *L. sempervirens* se puede inferir al observar el análisis fitoquímico en el cual se encontraron diferencias en las concentraciones y número de los compuestos de acuerdo a la época de extracción del follaje (Cuadro 2). Además de Safrol y Metil-eugenol, los cuales están en altas concentraciones, se observó que hay dos compuestos que presentan diferencias al comparar el aceite proveniente de material extraído en verano con el resto de las estaciones: isoterpinoleno (1,46% en verano, 0,13% en otoño, 0% en invierno y 0,1% en primavera) y (E)-germacreno D (2,31% en verano, 1,01% en otoño, 0,72% en invierno y 0,95% en primavera). Al respecto, Ramírez et al. (2012) demostraron que el aceite esencial obtenido de hojas de *Annona cherimola* Mill (Annonaceae), que es un efectivo insecticida y repelente de larvas y adultos de *Aedes aegypti* L. es rico en sesquiterpenos, siendo germacreno D su principal constituyente. Nerio et al. (2010), señalan que los compuestos volátiles de los aceites esenciales forman una barrera que disuade a los insectos a entrar en contacto con la superficie tratada, existiendo según Bekele y Hassanali (2001) un sinergismo entre los componentes de los aceites esenciales, por lo que su uso para control de insectos en forma de aceite esencial sería más eficiente que su principal compuesto aislado. Por tanto, Safrol

sumado a isoterpinoleno y (E)-germacreno D podrían ser los causantes del efecto repelente significativamente mayor observado en el aceite esencial de *L. sempervirens* cuando su follaje se colecta en verano. Por tanto, los resultados anteriores permiten afirmar que el aceite esencial de verano de *L. sempervirens* a una concentración de 2% presenta un efecto repelente clasificado según la escala de referencia (Cuadro 1) como muy alto.

En los bioensayos con aceite esencial de *L. philippiana* y *P. boldus* no se encontró diferencia significativa del efecto repelente entre estaciones, resultando todos los tratamientos con índices de repelencia entre 0,66 y 0,84; clasificándose como con repelencia moderada a débil (Cuadro 5). Por tanto, al no haber diferencia en la época de extracción del follaje, este se puede obtener en cualquier momento del año. Sin embargo, el análisis estadístico confirmó que tanto para el aceite esencial de *L. philippiana* como de *P. boldus* si hay diferencia significativa en la concentración en que se emplea el aceite esencial siendo significativamente mayores las concentraciones iguales o superiores a 2%. Todo lo anterior proyecta a los aceites esenciales de *L. sempervirens*, *L. philippiana* y *P. boldus* como potenciales repelentes de insectos de postcosecha aunque es recomendable su posterior validación en condiciones de bodega.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten concluir que existe efecto estacional sólo en la actividad repelente del aceite esencial de *L. sempervirens*, siendo el proveniente de follaje colectado en verano el que presenta la mayor repelencia contra adultos de *S. zeamais*. Este efecto no se presenta en los aceites esenciales de *L. philippiana* y *P. boldus*.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al programa Fondecyt iniciación de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT) que a través del proyecto N° 11110105 “Essential oil of *Peumus boldus* Molina, *Laurelia sempervirens* (Ruiz et Pau.) Tul and *Laureliopsis philippiana* Looser as an alternative to synthetic insecticides to *Sitophilus* spp. complex and *Acanthocelides obtectus* say control in stored seeds”, financió la presente investigación.

## LITERATURA CITADA

Bekele, J., and A. Hassanali. 2001. Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiataea) on two post-harvest insect pests. *Phytochemistry* 57:385-391.

Betancur, J., G. Silva, J.C. Rodríguez, S. Fischer, and N. Zapata. 2010. Insecticidal activity of *Peumus boldus* Molina essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean Journal of Agricultural research*. 70:399-407.

Bittner, M., M. Casanueva, C. Arbert, M. Aguilera, V. Hernández, and J. Becerra. 2008. Effects of essential oils from five plants species against the granary weevil *Sitophilus zeamais* and *Acanthoscelides obtectus*. *J. Chil. Chem. Soc.* 53: 1455-1459.

Brown, M, and A. Hebert. 1997. Insect repellents: an overview. *J. Am. Acad. Dermatol.* 36: 243–249.

Cansian, R.L., V. Astolfi, R.I. Cardoso, N. Paroul, S.S. Roman, A.A. Mielnoczki-Pereira, G.F. Pauletti and A.J. Mossi. 2015. Insecticidal and repellent activity of the essential oil of *Cinnamomum camphora* var. *Linaoolifera* Y. Fujita (Ho-Sho) and *Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl. Var. *Hosyo* (Hon-Sho) on *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera, Curculionidae). *Rev. Bras. Pl. Med.* 17:769-773.

Castro, A, D. Henriques, M. Coutinho, N. Terra, and M. de Sena Fernandes. 2011. Tomato plant inheritance of antixenotic resistance to tomato leafminer. *Pesq. Agropec. Bras.* 46:74-80.

Chu, S., Q. Liu, G. Jiang, and Z. Liu. 2011. Chemical composition and insecticidal activity of the essential oil of *Amethystea caerulea* L. *Natural Product Research.* 26:1207-1212.

Cruzat, M., G. Silva, H. Serri, y R. Hepp. 2009. Protección de ocho cultivares de trigo con polvo de *Peumus boldus* Molina contra *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *IDESIA* (Chile) 37: 39-46.

Evans, N.J. 1985. The effectiveness of various insecticides on some resistant beetle pests of stored products from Uganda. *J. Stor. Prod. Res* 21: 105-109.

Fancelli, M., J. Vendramim, R. Frighetto, e A. Lourenção. 2005. Exsudato glandular de genótipos de tomateiro e desenvolvimento de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Sternorrhyncha: Aleyrodidae) biótipo B. *Neotropical Entomology*. 34: 659-665.

Franzios, G., M. Mirotsoú, E. Hatziapostolou, J. Kral, Z.G. Scouras and P. Mavragani-Tsipidou. 1997. Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. *J. Agric. Food. Chem.* 45:2690-2694.

Gómez, K., and A. Gómez. 1984. *Statistical Procedures for Agricultural Research*. 2da ed. John Wiley & Sons, New York, USA.

Hori, M. and H. Komatsu. 1997. Repellency of Rosemary oil and its components against the Onion aphid, *Neotoxoptera formosana* (Takahashi) (Homoptera, Aphididae). *Appl. Entomol. Zool.* 32:303-310.

Klocke, J.A., M.V. Darlington and M.F. Balandrin. 1987. 1,8-Cineole (Eucalyptol), a mosquito feeding and ovipositional repellent from volatile oil of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae). *J. Chem. Ecol.* 13:2131-2141.

Larraín, P. 1994. Manejo integrado de plagas en granos almacenados. *IPA La Platina* 81:10-16.

Mao-xin, Z., B. Ling, C. Shao-ying, L. Guang-wen and P. Xiong-fei. 2004. Repellent and oviposition deterrent activities of the essential oil from *Mikania micrantha* and its compounds on *Plutella xylostella*. *Entomologia Sinica* 11:37-45.



Mazzonetto, F., e J. Vendramim. 2003. Efeito de Pós de Origem Vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleóptera: Bruchidae) em Feijao Armazenado. *Neotropical Entomology* 32: 145-149.

Müller, G. A. Junnila, J. Butler, V.D. Kravchenko, E. E. Revay, R. W. Weiss and Y. Schlein. 2009. Efficacy of the botanical repellents geraniol, linalool, and citronella against mosquitoes. *Journal of Vector Ecology*. 34:2-8.

Nerio, L, J. Oliver, and E. Stashenko. 2010. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technol.* 101:372–378.

Ngoh, S., L.E.W. Choo, F. Y. Pang, Y. Huang, M.R. Kini and S.H. Ho. 1998. Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the american cockroach, *Periplaneta americana* (L.). *Pestic. Sci.* 54:261-268.

Niemeyer, H., y S. Teillier. 2007. Aromas de la flora nativa de Chile. Universidad de Chile-Fundación para la Innovación Agraria (FIA), Santiago, Chile.

Núñez, P., G. Silva, M. Tapia, R. Hepp, J.C. Rodríguez, y A. Lagunes. 2010. Toxicidad de polvos de follaje de Paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y Boldo (*Peumus boldus* Mol.) solos y en mezcla con carbonato de calcio sobre el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky). *Agro-Ciencia/Rev. Chil. Cs. Agropec* 26:71-80.

Obeng-Ofori, D., CH. Reichmuth and A. Hassanali. 1997. Biological activity of 1,8 cineole, a major component of essential oil of *Ocimum kenyense* (Ayobangira) against stored product beetles. *J. Appl. Ent.* 121:237-243.

Ortiz, A., G. Silva, A. Urbina, N. Zapata, J.C. Rodríguez, and A. Lagunes. 2012. Bioactivity of Tepa (*Laureliopsis philippiana* (Looser) Shodde) powder to *Sitophilus zeamais* Motschulsky control in laboratory. *Chilean Journal of Agricultural Research* 72: 68-73

Pérez, F., G. Silva, M. Tapia, y R. Hepp. 2007. Variación anual de las propiedades insecticidas de *Peumus boldus* sobre *Sitophilus zeamais*. Pesquisa Agropecuaria Brasileira. 42:633-639

Pérez-Mendoza, J. 1999. Survey of insecticide resistance in mexican populations of maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). J. Stored. Prod. Res. 35: 107-115.

Pimentel, M., L. Faroni, R. Guedes, A. Sousa, and M. Tótola. 2009. Phophine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). J. Stored Prod. Res. 45: 71-74.

Pizarro, D., G. Silva, M. Tapia, J.C. Rodriguez, A. Urbina, A. Lagunes, C. Santillán-Ortega, A. Robles-Bermúdez, and S. Aguilar-Medel. 2013. Insecticidal activity of *Peumus boldus* Molina (Monimiaceae) powder against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas (BLACPMA). 12: 420-430.

Ramírez R., F. Mora, J. Avila, L. Rojas, A. Usubillaga, S. Segnini y J. Carmona. 2012. Composición química y actividad larvicida del aceite esencial de *Annona cherimola* Mill. de Los Andes venezolanos contra el mosquito *Aedes aegypti* (L.). Revista de la Facultad de Farmacia 53:2-6.

Ribeiro, B., R. Guedes, E. Oliveira, and J. Santos. 2003. Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). J. Stored Prod. Res. 39: 21-31.

Rodríguez, C., G. Silva, y J. Vendramim. 2003. Insecticidas de origen vegetal. In: Silva, G., y R. Hepp. (Ed.). Bases para el manejo racional de insecticidas. Chillán: Universidad de Concepción/ Fundación para la Innovación Agraria, p. 87-112.

Rodríguez, R., E. Ruiz, y J.P. Elissetche. 2005. Árboles en Chile. Editorial Universidad de Concepción. Concepción. Chile.

Roel, A., e J. Vendramim. 2006. Efeito residual do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) para lagartas de diferentes idades de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Ciencia Rural* 36:1049-1054.

Tefera, T., S. Mugo, and P. Likhayo. 2011. Effects of insect population density and storage time on grain damage and weight loss in maize due to the maize weevil *Sitophilus zeamais* and the larger grain borer *Prostephanus truncatus*. *Afric. J. Agric. Res.* 6: 2249-2254.

Torres, C., G. Silva, M. Tapia, J.C. Rodríguez, A. Urbina, I. Figueroa, A. Lagunes, C. Santillán-Ortega, A. Robles, S. Aguilar, and I. Tucuch. 2014. Insecticidal activity of *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul. essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean Journal of Agricultural Research* 74:421-426.

Torres, C., G. Silva, M. Tapia, J.C. Rodríguez, A. Urbina, I. Figueroa, A. Lagunes, C. Santillán-Ortega, A. Robles, y S. Aguilar. 2015. Propiedades insecticidas del polvo de *Laurelia sempervirens* L. para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas (BLACPMA)* 14: 48-59.

Traboulsi, A., S. El-Haj, M. Taobu, N.A. Nader and A. Mrad. 2005. Repellency and toxicity of aromatic plant extracts against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Manag. Sci.* 61:597-604.

Ukeh, D., M.A. Birkett, J.A. Pickett, A. S. Bowman and A.J.M. Luntz. 2009. Repellent activity of alligator pepper, *Aframomum melegueta*, and ginger, *Zingiber officinale*, against the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Phytochemistry* 70:751-758.

Vogel, H., I. Razmilic, y U. Doll. 1997. Contenido de aceite esencial y alcaloides en diferentes poblaciones de boldo. *Ciencia e Investigación Agraria*, 24:1-6.

Wang, J., F. Zhu, X.M. Zhou, C.Y. Niu and C.L. Lei. 2006. Repellent and fumigant activity of essential oil from *Artemisia vulgaris* to *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Stored Prod. Res.* 42:339-347.

Wu, Y., Z. Wen-Juan, W. Ping-Juan, K. Yang, H. Dong-Ye, W. Jian-Yu, T. Zhao-Fu, B. Jia-Feng and D. Shu-Shan. 2015. Contact toxicity and repellency of the essential oil of *Liriope muscari* (DECN.) Bailey against three insect tobacco storage pests. *Molecules* 20:1676-1685.

Yoon, C., M. Sang-Rae, J. Jin-Won, S. Youn-Ho, C. Sun-Ran, A. Ki-Su, Y. Jeong-Oh and K. Gil-Hah. 2011. Repellency of lavender oil and linalool against spot clothing wax cicada, *Lycorma delicatula* (Hemiptera: Fulgoridae) and their electrophysiological responses. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 14:411-416.

Zapata, N., and G. Smagghe. 2010. Repellency and toxicity of essential oils from the leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneum*. *Ind- Crops Prod.* 32: 405-410.

Cuadro 1. Escala de intensidad de repelencia de acuerdo a valores obtenidos con el índice de Mazzonetto y Vendramin (2003).

Valor índice de repelencia (IR)*	Categoría
$\geq 1,0$	Sin repelencia
0,76-0,99	Repelencia débil
0,51- 0,75	Repelencia moderada
0,26- 0,50	Repelencia alta
0,0- 0,25	Repelencia muy alta

\*Índice de repelencia (IR)=  $2G / (G+P)$ , donde G= porcentaje de insectos de cada tratamiento y P= porcentaje de insectos en el testigo.



Cuadro 2. Principales constituyentes de los aceites esenciales de *L. sempervirens*, *L. philippiana* y *P. boldus* desde follaje colectado en Otoño, Invierno, Primavera y Verano determinado por Cromatografía de gases y Espectrometría de masas.

Componentes (%)	Concentración (%)											
	<i>Laurelia sempervirens</i>				<i>Laureliopsis philippiana</i>				<i>Peumus boldus</i>			
	Otoño	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
1-8-cineol	0,19	-	1,47	-	9,69	9,21	8,28	-	35,39	39,96	14,85	32,3
Isoterpinoleno	0,13	-	0,10	1,46	-	-	-	0,12	0,29	18,26	-	14,5
Terpineol	0,48	-	0,10	-	3,59	3,56	3,32	0,44	2,55	3,84	2,14	6,56
Terpinen-4-ol	0,13	-	0,10	0,13	0,54	-	-	0,13	2,55	4,54	3,37	3,57
g-Terpineno	3,73	2,31	0,03	3,38	-	-	0,14	4,49	-	-	3,94	7,34
p-Cimene	0,54	-	0,25	0,33	1,15	1,40	0,07	0,77	8,68	8,46	0,21	7,60
Methyl-eugenol	39,74	28,49	14,64	20,54	8,30	8,12	4,47	61,38	1,08	0,33	0,46	0,19
Safrol	38,47	59,11	64,70	57,98	29,87	32,63	39,56	17,04	-	-	1,45	-
Linalool	0,97	0,61	9,91	0,68	29,79	27,39	34,45	0,85	-	-	-	0,86
(E)-germacreno	1,01	0,72	0,95	2,31	0,92	0,89	0,84	2,54	-	-	0,45	0,18
B-Tujene	6,61	4,56	0,23	-	-	-	0,04	-	-	-	0,32	-
Ascaridol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24,37	-
Trans-b-ocymen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12,87	-

Cuadro 3. Efecto de la concentración sobre la repelencia de los aceites esenciales de *L. sempervirens*, *L. philippiana* y *P. boldus* contra adultos de *S. zeamais*.

Especie	<i>L. philippiana</i>	<i>P. boldus</i>	<i>L. sempervirens</i>
Concentración (%)	Índice de repelencia (IR)*	Índice de repelencia (IR)*	Índice de repelencia (IR)*
0,125	1,10 a	1,01 a	0,96 a
0,25	1,05 ab	1,05 a	0,93 a
0,5	0,83 ab	0,82 a	0,91 ab
1,0	0,78 ab	1,10 a	0,88 ab
2,0	0,60 bc	0,72 a	0,65 bc
4,0	0,26 c	0,32 b	0,60 c
8,0	0,23 c	0,18 b	0,38 c
CV(%)*	18,51	15,62	11,53

\*Índice de repelencia (IR)=  $2G / (G+P)$ , donde G= porcentaje de insectos de cada tratamiento y P= porcentaje de insectos en el testigo.

Dentro de la misma columna, los valores con la misma letra minúscula no son significativamente diferentes entre sí (Tukey,  $p \leq 0,05$ ). \*Coeficiente de variación.

Cuadro 4. Efecto repelente del aceite esencial de *L. sempervirens* sobre adultos de *S. zeamais*.

Estación	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
Concentración	Índice de repelencia (IR)*			
0,125	0,70 Aab	1,22 Aa	0,91 Aa	1,03 Aa
0,25	0,90 Aa	1,20 Aa	0,98 Aa	0,64 Aab
0,5	0,90 Aa	1,03 Aa	0,95 Aa	0,74 Aab
1,0	0,78 Aab	0,97 Aab	0,85 Aa	0,93 Aab
2,0	0,80 Aab	0,83 Aab	0,98 Aa	0,00 Bc
4,0	0,76 Aab	0,71 Aab	0,85 Aa	0,07 Bc
8,0	0,27 Ab	0,40 Ab	0,50 Aa	0,36 Abc

\*Índice de repelencia (IR)=  $2G / (G+P)$ , donde G= porcentaje de insectos de cada tratamiento y P= porcentaje de insectos en el testigo.

Dentro de la misma fila, los valores con la misma letra mayúscula y dentro de la misma columna, los valores con la misma letra minúscula no son significativamente diferentes entre sí (Tukey,  $p \leq 0,05$ ). Coeficiente de variación= 11,53%.

Cuadro 5. Efecto de la estacionalidad sobre la repelencia contra adultos de *S. zeamais* en la extracción de follaje de los aceites esenciales de *L. philippiana* y *P. boldus*.

Especie	<i>L. philippiana</i>	<i>P. boldus</i>
Estación	Índice de repelencia (IR)*	Índice de repelencia (IR)*
Otoño	0,78 a	0,66 a
Invierno	0,63 a	0,84 a
Primavera	0,62 a	0,76 a
Verano	0,73 a	0,71 a
CV(%)*	18,51	15,62

\*Índice de repelencia (IR)=  $2G / (G+P)$ , donde G= porcentaje de insectos de cada tratamiento y P= porcentaje de insectos en el testigo.

Dentro de la misma columna, los valores con la misma letra minúscula no son significativamente diferentes entre sí (Tukey,  $p \leq 0,05$ ). \*Coeficiente de variación.



## CONCLUSIONES GENERALES

1.- Las propiedades insecticidas de contacto y fumigante de los aceites esenciales de *L. sempervirens*, *L. philippiana* y *P. boldus* sobre *S. zeamais* varían significativamente de acuerdo a la estación del año en que se haya realizado la colecta del follaje.

2.- El aceite esencial de *L. philippiana* presenta mayor toxicidad de contacto/fumigante cuando se obtiene de follaje colectado en invierno, mientras que *P. boldus* en otoño e invierno y *L. sempervirens* en verano.

3.- La repelencia de los aceites esenciales de *L. philippiana* y *P. boldus* no se ve afectada por la estacionalidad.

4.- El aceite esencial de *L. sempervirens* presenta mayor efecto fumigante cuando se obtiene de follaje colectado en verano.

