

Actividad insecticida de 1,8-cineol sobre mosca de los frutos, *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae)

Sandra V. Clemente^{1*}, Graciela Mareggiani¹, Adriana Broussalis² y Graciela Ferraro²

¹ Zoología Agrícola. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Av. San Martín 4453 (1417) Buenos Aires. República Argentina.

² Cátedra de Farmacognosia-IQUIMEFA. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junín 956 (1113), Buenos Aires, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: clemente@agro.uba.ar.

Resumen

El espliego o lavanda, *Lavandula spica* L. (Lamiaceae), es una especie arbustiva originaria de Europa Meridional y norte de África, ampliamente utilizada como ornamental y aromática, cultivada en casi todo el mundo. La evaluación del aceite esencial y de su componente mayoritario, 1,8-cineol, sobre una plaga clave –la mosca de los frutos *Ceratitis capitata* Wied.– utilizando cuatro metodologías diferentes mostró su significativa actividad insecticida sobre esta importante plaga de la agroindustria, si se altera la fisiología del insecto. Se confirmó la actividad por la ingestión y el contacto del monoterpenoide aislado. Estos resultados podrían tener aplicación en el manejo integrado de plagas.

Insecticidal Activity Of 1,8-Cineole Against The Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)

Summary

The lavender, *Lavandula spica* L. (Lamiaceae) is a species originate of Southern Europe and North of Africa, broadly used as ornamental and aromatic, and cultivated practically in the entire world. The evaluation of the essential oil and of their majority component, 1,8-cineole, on a common plague (the fruit fly) *Ceratitis capitata* Wied. using four different methodologies, shows their significant insecticide activity on this important plague of the agroindustry, modifying the insect physiology. Its confirm ingestion and contact toxicity of the isolated monoterpenoid. These results could be useful in integrated pest management.

Introducción

La acción de los insectos sobre las plantas ha dado lugar a una enorme variedad de metabolitos secundarios o especiales con actividad insecticida diversa, producidos por las plantas como defensa; sus propiedades han sido utilizadas por el hombre desde

tiempos remotos para el control de plagas (Isman, 2006).

Hay más de 100.000 compuestos producidos durante el crecimiento y el desarrollo de ciertas especies, que se biosintetizan en la hojas, las flores, los frutos, la raíz, etcétera. La mayoría de estos compuestos no son esenciales para la planta y actúan

Palabras clave: 1,8-cineol - *Lavandula spica* - *Ceratitis capitata* - actividad insecticida.

Key words: 1,8-cineole - *Lavandula spica* - *Ceratitis capitata* - insecticidal activity.

como semioquímicos generadores de mensajes comportamentales específicos que afectan al insecto e influyen sobre la localización del hospedante, su alimentación, su oviposición, su crecimiento y su desarrollo (Mareggiani, 2001). Muchos semioquímicos desempeñan un papel esencial en los mecanismos defensivos contra los insectos fitófagos o herbívoros; esta propiedad los torna un campo interesante en la búsqueda de moléculas novedosas para el manejo de plagas agrícolas (Metcalf y Luckman, 1994).

El espliego o lavanda, *Lavandula spica* L. (Lamiaceae) es una especie arbustiva originaria de Europa Meridional y norte de África (Figura 1), cuyos extractos, tanto en cloruro de metileno como en metanol, han mostrado desempeñar una acción insecticida sobre tribolio (*Tribolium castaneum* Herbst), y que ocasionaron una mortalidad del 90% y del 60%, respectivamente, y también demoras en el desarrollo significativas (Clemente y col., 2002; 2003). Esta actividad se debe principalmente al monoterpenoide 1,8 cineol, que se encuentra en altas concentraciones en el aceite esencial de esta Lamiácea, causando mortalidad significativa en las larvas neonatas de tribolio (Maga y col., 2000).

Con el fin de confirmar su efectividad sobre otras especies de importancia agrícola, se evaluó la actividad del aceite esencial de lavanda y de su componente mayoritario 1,8-cineol sobre la mosca de los frutos, *Ceratitis capitata* W. –importante plaga de la agroindustria– por medio de diferentes técnicas de laboratorio.

Material experimental

Insecto

Ceratitis capitata W (Diptera: Tephritidae). Se empleó material de la cría en el laboratorio de la Cátedra de Zoología Agrícola (FAUBA) desde 2001 (Figura 2). Los adultos fueron criados en jaulas en condiciones controladas de temperatura (25 ± 1 °C), humedad relativa ($60 \pm 5\%$) y fotoperíodo (14h:10h) y alimentados con levadura de cerveza y azúcar en una proporción de 1:3 (Greene y col., 1976). Se emplearon frutas artificiales para la oviposición. Las larvas fueron mantenidas a 25 ± 1 °C y 60 ± 5 % HR en dieta artificial (Terán, 1977).

Figura 1.- Planta de lavanda en parcelas a campo de producción orgánica



Figura 2.- Interior de una jaula de cría con moscas adultas de *C. capitata*



Productos evaluados

Aceite esencial extraído de la parte aérea de *L. spica* cultivada en condiciones de producción orgánica en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Se realizó por arrastre con vapor utilizando el equipo descrito en la Farmacopea Europea, 1ª edición (1899). Se pesaron 50 g del material vegetal convenientemente trozado y se usó benceno como atrapante de baja densidad. El aceite esencial así obtenido fue analizado por medio de un espectrómetro de masa Hewlett Packard 5890 serie II acoplado a HP 5972 detector selectivo 70 eV y se determinó el rendimiento. 1,8 cineol puro, aislado de *L. spica* L.

Bioensayos

La evaluación de los efectos biológicos del compuesto se realizó mediante cuatro metodologías diferentes:

Exposición a alimento tratado (EAT)

Este método permite evaluar el efecto sobre las larvas al ingerir alimento. Se realizó la impregnación de la dieta con distintas diluciones alcohólicas del aceite esencial (5 - 500 y 5.000 ppm) y del producto que se ensayó (50 - 500 y 2.500 ppm). Se utilizó un control consistente en dieta impregnada solamente con alcohol. Luego de evaporar el solvente dos horas, se incorporaron diez larvas neonatas por repetición, manteniéndolas en cámara de cría a 25 ± 1 °C, $60 \pm 5\%$ HR y oscuridad (Bado y col., 2004) (Figura 3). Se evaluó la mortalidad en cada etapa de la metamorfosis, la mortalidad total y las demoras en el desarrollo, por medio de determinaciones periódicas del número de puparios, de adultos y del registro de presencia de alteraciones morfológicas luego de quince días de finalizado el bioensayo.

Aplicación tópica (AT)

Se seleccionaron larvas maduras de tercer estadio. Se trataron grupos de diez insectos por aplicación tópica con cada dilución del 1,8 cineol en etanol (50 -500 y 5.000 ppm) usando una microjeringa Hamilton de 10 ml. El volumen aplicado fue de 0,2 ml por insecto y el sitio de aplicación, la última porción del abdomen. Los insectos tratados recibieron una dosis de 0,2 - 2 y 20 μ g por insecto, mientras que los controles se trataron de igual manera, pero solamente con etanol. Posteriormente, las larvas se colocaron en recipientes de vidrio que contenían 10 g de arena esterilizada y se taparon en forma que permitiera su aireación. Se evaluó la mortalidad y las alteraciones en el desarrollo del insecto durante diez días.

Por exposición en papel de filtro impregnado (EPFI)

Se impregnó papel de filtro Whatman N° 2 de 9 cm de diámetro, ubicado en el fondo de cajas de Petri, con un mililitro de cada dilución etanólica de cineol 50 - 500 y 5.000 ppm. Luego de una hora de evaporado el solvente, se incorporaron diez adultos recién emergidos manteniendo en cámara de cría a 25 ± 1 °C, $60 \pm 5\%$ HR y se registró la mortalidad a las tres horas de iniciado el ensayo (Park y col., 2003).

Aplicación en bebederos de adultos (ABA)

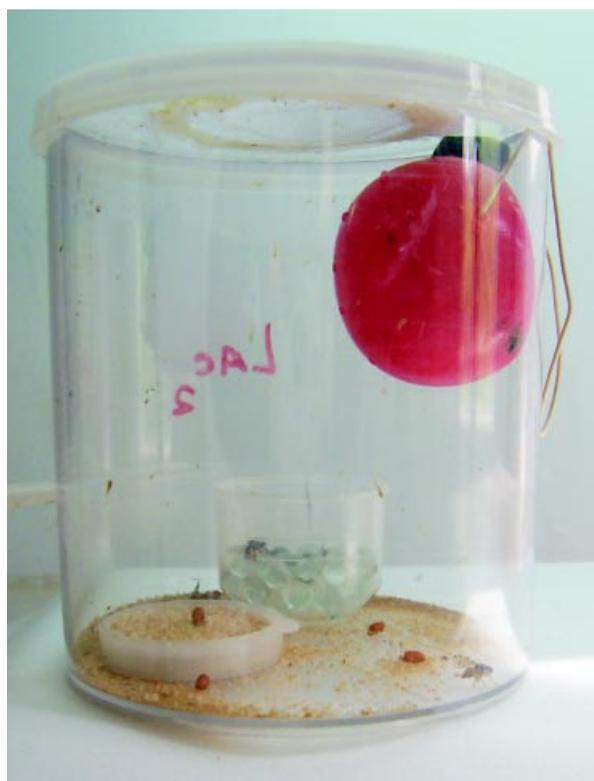
Se preparó una suspensión de 1,8 cineol en agua destilada que contenía una gota por mililitro de Tween 20 como tensioactivo, para lograr la concentración deseada (500 ppm). Esta suspensión fue incorporada a los bebederos de los adultos, de 20 ml de capacidad, que contenían esferas de vidrio de

5 mm de diámetro para evitar su inmersión (Budia y col., 1988). Los controles solo contenían agua y Tween 20. Todos los bebederos fueron colocados en recipientes cilíndricos de plástico transparente (10 cm de altura y 8,5 cm de diámetro) conjuntamente con platos con 10 mg de levadura de cerveza y azúcar (1:3).

Figura 3.- Bioensayo de exposición a alimento tratado en condiciones controladas



Figura 4.- Bioensayo de aplicación de 1,8-cineol en bebedero de adultos



Se ubicaron diez adultos recién emergidos en cada frasco. Cada 48 horas (tres veces en total, durante todo el bioensayo) se repuso cada solución hasta completar el total del volumen inicial. La mortalidad se registró diariamente durante diez días (Bado y col., 2004). También se colocaron pequeñas frutas artificiales para permitir la actividad de oviposición normal (Figura 4).

Análisis estadístico

Los bioensayos se realizaron siguiendo un diseño completamente aleatorio con cuatro repeticiones para cada tratamiento. Todos los resultados se analizaron estadísticamente por medio de análisis de variancia y el Test de Tukey (Norman y Steiner, 1996). Los análisis de dosis-respuesta se efectuaron por el método Probit (Finney, 1971).

Resultados y discusión

Los estudios realizados permiten confirmar la actividad insecticida del aceite esencial de lavanda en la mosca de los frutos en EAT (Tabla 1). Considerando que el 1,8-cineol es uno de los compuestos mayoritarios en este aceite esencial, estos resultados se compararon con los de 1,8-cineol puro utilizando distintas metodologías de aplicación y diluciones. Este criterio se aplicó con el fin de determinar en qué medida este monoterpenoide podría ser el responsable de la actividad insecticida de *L. spica*. La CL50 oral obtenida para el aceite esencial fue de 346 ppm, mientras que para el compuesto puro fue de 1079 ppm.

Al exponer las larvas neonatas al alimento tratado con 1,8-cineol puro, las respuestas fueron significativas ($p < 0,05$) ya que se obtuvo una mortalidad total elevada con las concentraciones más altas em-

Tabla 1. - Mortalidad producida por el aceite esencial de lavanda y por 1,8 cineol sobre la mosca de los frutos *Ceratitis capitata*.

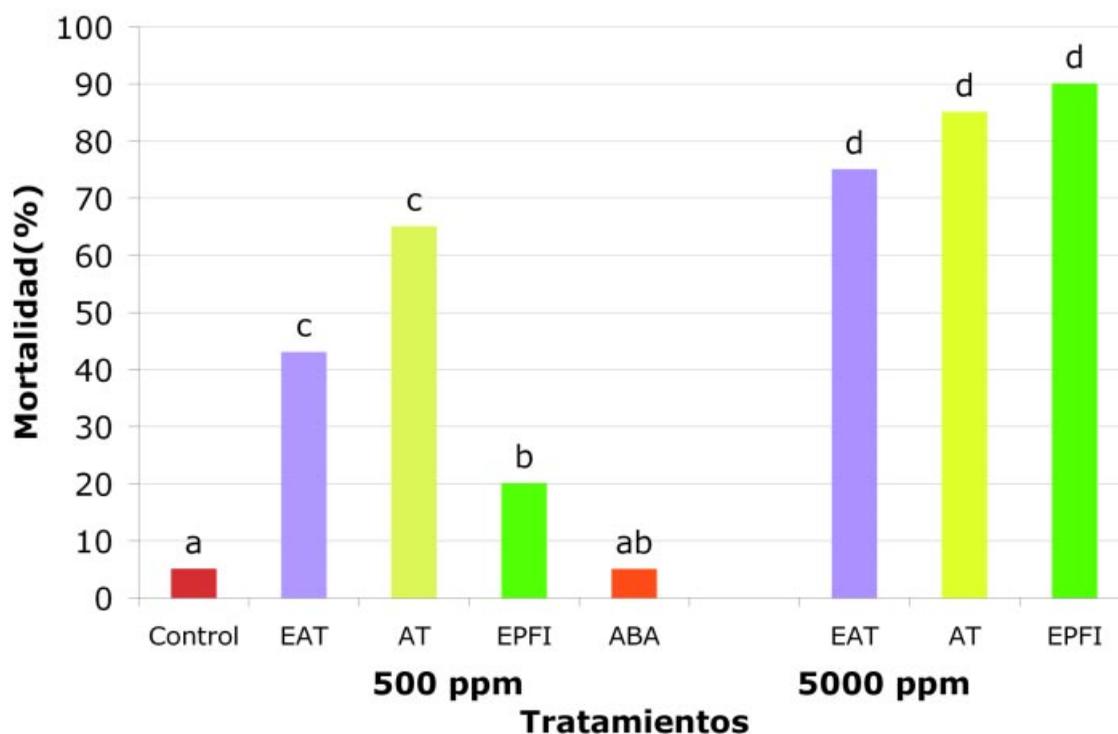
Método experimental	Producto evaluado	Estado de desarrollo del insecto	Dosis y concentración	Mortalidad total (%)
Exposición a alimento tratado (EAT)	Aceite esencial	Larva neonata	Control 5 ppm 500 ppm 5.000 ppm	0a 1a 60b 90c
	1,8 cineol	Larva neonata	Control 5 ppm 500 ppm 5.000 ppm	0a 10a 43b 60b
Aplicación tópica (AT)	1,8 cineol	Larva madura	Control 0,2 $\mu\text{g} \times \text{ins}^{-1}$ 2 $\mu\text{g} \times \text{ins}^{-1}$ 20 $\mu\text{g} \times \text{ins}^{-1}$	0a 0a 65b 85b
Exposición en papel de filtro impregnado (EPFI)	1,8 cineol	Adulto	Control 5 ppm 500 ppm 5.000 ppm	0a 0a 20b 90c
Aplicación en bebedero de adulto (ABA)	1,8 cineol	Adulto	Control 500	0a 3ab

pleadas (Tabla 1). Comparando estos valores con los mencionados, se desprende que en este último caso la mortalidad podría haber sido resultado de la sumatoria de un conjunto de compuestos bioactivos que incluirían al 1,8-cineol, ya que otros autores mencionan una mortalidad superior al 80% producida en *Sitophilus granarius* (Coleoptera) por distintos monoterpenoides presentes en el aceite esencial de tres especies de *Artemisia* donde 1,8-cineol es uno de los componentes mayoritarios (Kordali y col., 2006); incluso, se sabe que el aceite de *L. spica* contiene santoninas que producen efectos subletales sobre las plagas de granos almacenados (Maga y col., 2000). En los bioensayos realizados por AT (2 y 20 $\mu\text{g}\cdot\text{ins}^{-1}$) con larvas maduras y por EPFI (500 y 5.000 ppm) con adultos se registraron valores de mortalidad significativos (Gráfico 1). Estos resultados reafirman el modo de acción por contacto del cineol, ya detectado por Prates y colaboradores en plagas de granos almacenados (1998), además de ser eficaz al exponer larvas neonatas al alimento tratado.

La aplicación en bebederos de moscas (ABA) no produjo mortalidad y no afectó el comportamiento de ingesta líquida (Tabla 1). Sin embargo, se observó ausencia de posturas, hecho que se podría deber a deficiencias en la oviposición (Yang y col., 2004). En relación con los efectos subletales causados tanto por el 1,8-cineol como por el aceite de lavanda en el desarrollo de la mosca de los frutos, no se registraron demoras significativas en las larvas tratadas con 1,8-cineol. Contrariamente, el ciclo vital de este insecto se prolongó 75% con respecto al control, al tratarlo con el aceite esencial por EAT (500 ppm). Esta información se corresponde con la demora del desarrollo postembrionario producida por el aceite esencial de lavanda sobre *Tribolium castaneum* H., que sufre un alargamiento superior al 40% en su ciclo vital al emplear la misma metodología. (Maga y col., 2000).

La esencia de lavanda utilizada en este trabajo contiene 1,8-cineol como uno de sus principales componentes y tiene registrada actividad insecticida y repelente sobre *Sitophilus granarius*, *S. zeamaiz* y

Gráfico 1.- Mortalidad de *C. capitata* producida con 1,8-cineol a diferentes dosis y concentraciones en ensayos por EAT, AT, EPFI y ABA



Letras diferentes al tope de las barras indican diferencias significativas $p < 0,05$.

Rizopertha dominica (Bowers y col., 1993). Sobre *Rizopertha dominica* actúa luego de ingresar al interior por los espiráculos, y también puede penetrar por la cutícula (Prates y col., 1998). La actividad insecticida del 1,8-cineol sobre *C. capitata* registrada en este trabajo podría adjudicarse a estas vías de ingreso.

Estos resultados son relevantes para el desarrollo de medidas de manejo ecológicas que sirvan como alternativa a otras técnicas más contaminantes, para el control de plagas con bajo impacto ambiental.

Referencias bibliográficas

- Bado, S.G.; Mareggiani, G.; Amiano, N.; Veleiro, A. and Burton, G. (2004). "Lethal and sublethal effects of withanolides from *Salpichroa origanifolia* and analogues on *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)". *J. Agric. Food Chem.* 52: 2875-2878.
- Bowers, W.; Ortego, F.; Xiaoqing, Y. and Evans, P. (1993). "Insect repellents from the Chinese prickly ash *Zanthoxylum burgeanum*". *J. Nat. Prod.* 56(6): 935-938.
- Budia, F.; Viñuela, E. y del Estal., P. (1988). "Estudios preliminares de los efectos de la ciromacina sobre *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae)". *Bol. San. Veg. Plagas* 14: 141-147.
- Clemente, S., Mareggiani G.; Broussalis, A.; Martino, V. y Ferraro, G. (2002). "Actividad de extractos crudos de plantas aromáticas sobre la supervivencia y desarrollo de *Tribolium castaneum*". *Acta Tox. Argentina* 10(1): 2-4.
- Clemente, S.; Mareggiani, G.; Broussalis, A.; Martino, V. and Ferraro, G. (2003). "Insecticidal effects of Lamiaceae species against stored products insects" *Bol. San. Veg. Plagas* 29: 421-426.
- Finney, D.J. (1971). *Probit analysis* (3rd ed.) Cambridge Univ. Press. New York 333 pp.
- Greene, G. L.; Leppla, N. C. and Dickerson, W. A. (1976). "Velvet caterpillar. A rearing procedure and artificial medium". *J. Econ. Entomol.* 69: 447-448.
- Isman, M. (2006). "Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world". *Annu. Rev. Entomol.* 55: 45-66.
- Kordali, S.; Aslan, I.; Calmasur, O. and Cakir, A. (2006). "Toxicity of essential oils isolated from three *Artemisia* species and some of their major components to granary weevil, *Sitophilus granaries* (L.) (Coleoptera: Curculionidae)". *Industrial Crops & Products* 23(2): 162-170.
- Maga, R.; Broussalis, A.; Clemente, S.; Mareggiani, G. and Ferraro, G. (2000). "1,8-Cineol: Responsible for the insecticide activity of *Lavandula spica* Mill (lavender)". *Rev. Latin. Química* 28(3): 146-148.
- Mareggiani, G. (2001). "Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal". *Manejo integrado de Plagas* 60: 22-30.
- Metcalf, R.L. y Luckman, W.H. (1994). *Introducción al manejo integrado de plagas de insectos*. Noriega eds. México 710 pp.
- Norman, G.R. y Steiner, D.L. (1996). *Bioestadística*. Mosby-Doyma. Madrid. 250 pp.
- Park, I.; Lee, S.; Choi, D.; Park, J. and Ahn, Y. (2003). "Insecticidal activity of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.)". *J. Stored Prod. Res.* 39(4): 375-384.
- Prates, H.T.; Santos, J.P.; Waqui, J.M.; Fabris, J.D.; Oliveira, A.B. and Foster, J.E. (1998). "Insecticidal activity of monoterpenes against *Rizopertha dominica* (F) and *Tribolium castaneum* (Herbst)" *J. Stored P. Res.* 34(4): 243-249.
- Teran, H. R. (1977). "Comportamiento alimentario y su correlación con la reproducción en hembras de *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae)". *Rev. Agron. NOA* 14: 17-34.
- Yang, Y.C.; Chol, H.Y.; Chol, W.S.; Clark, J.M. and Ahn, Y.J. (2004). "Ovicidal and adulticidal activity of *Eucaliptus globulus* leaf oil terpenoids against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae)". *J. Agric. Food Chem.* 52(9): 2507-2511.