

Toxicidad y repelencia de aceites esenciales en plagas de almacén del arroz

M. J. PASCUAL-VILLALOBOS, M. C. BALLESTA-ACOSTA, A. SOLER

Las plagas de almacén pueden ocasionar pérdidas de peso y calidad en el arroz. La producción ecológica carece de medios eficaces para controlar los insectos en postcosecha. Con objeto de estudiar el potencial de uso de aceites esenciales (de alcarabea, coriandro y albahaca), se ha estudiado su actividad en *Sitophilus oryzae* Linnaeus, *Rhyzopertha dominica* Fabricius y *Cryptolestes pusillus* Schönherr por medio de bioensayos en laboratorio.

Estos productos no manifestaron toxicidad volátil ni acción repelente para el gorgojo del arroz. Sin embargo, el aceite de alcarabea, cuyo principal compuesto es la carvona, así como los aceites de algunas poblaciones de albahaca que contienen metil chavicol tuvieron cierta toxicidad por contacto. Por ejemplo, en el primer caso, 100% de mortalidad en aplicaciones de 10 µl a discos de papel de filtro que se reducen al 44% si las aplicaciones se hacen al arroz.

El capuchino (*R. dominica*) y especialmente la carcoma achatada de los granos (*C. pusillus*) son más sensibles a los vapores y prácticamente todos los aceites inducen toxicidad volátil. A corto plazo (2 h.) aquellos que contenían mezclas de metil chavicol y linalol resultaron más activos. También se observó una acción repelente de los aceites de alcarabea, coriandro y albahaca (de distinta composición química), ocasionando por ejemplo que la cantidad de insectos que abandonaban el arroz tratado fuera de 2 a 4 veces más que en el control.

M. J. PASCUAL-VILLALOBOS, M. C. BALLESTA-ACOSTA, A. SOLER: Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario, Estación Sericícola, 30150 La Alberca, Murcia.

Palabras clave: *Sitophilus oryzae*, *Rhyzopertha dominica*, *Cryptolestes pusillus*, *Carum carvii*, *Coriandrum sativum*, *Ocimum basilicum*, carvona, metil chavicol, linalol, arroz.

INTRODUCCIÓN

La albahaca (*Ocimum basilicum* L.) es una labiada utilizada como condimento y planta ornamental. Las hojas de esta especie desprenden aromas alimonados, anisados, alcanforados etc. según el quimiotipo (SIMON *et al.*, 1999). La alcarabea (*Carum carvii* L.) y el coriandro (*Coriandrum sativum* L.) son umbelíferas condimentarias cuyos frutos acumulan aceites esenciales ricos en carvona y linalol respectivamente (OOSTERHAVEN, 1995; DIEDE- RICHSEN, 1996). Según TRIPATHI *et al.*, (2000) la carvona fue efectiva por fumigación en adultos de *Callosobruchus maculatus* y *Tribolium castaneum*.

Los trabajos de otros autores (SHAAYA *et al.*, 1991; REGNAULT-ROGER y HAMRAOUI, 1995; PASCUAL-VILLALOBOS y BALLESTA-ACOSTA, 2003) han atribuido a los aceites esenciales, propiedades insecticidas. Estos productos naturales podrían ser desarrollados como nuevos agentes para el control de gorgojos en productos almacenados, particularmente en agricultura ecológica en donde hay falta de alternativas disponibles.

Estudios recientes (PASCUAL-VILLALOBOS y DEL ESTAL, 2003) han puesto de manifiesto que entre las plagas más importantes del arroz almacenado destacan, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae), *Rhyzopertha dominica* Fabricius (Coleoptera: Bos-

trichidae) y *Cryptolestes pusillus* Schönherr (Coleoptera: Cucujidae).

El objetivo de este trabajo era probar la actividad volátil, por contacto y repelente de aceites esenciales de semillas de alcarabea y coriandro y hojas de albahaca en *S. oryzae*, *R. dominica* y *C. pusillus* así como atribuir dichos efectos a su composición química.

MATERIAL Y MÉTODOS

Aceites esenciales

Los aceites esenciales se han obtenido por destilación al vapor (con un clavenger) de semillas de alcarabea (*Carum carvii*, Umbelliferae), semillas de coriandro (*Coriandrum sativum*, Umbelliferae) y hojas de 13 poblaciones distintas de albahaca (*Ocimum basilicum*, Labiatae). El análisis de los mismos se llevó a cabo por medio de un cromatógrafo de gases HP Modelo 5890 Series II equipado con una columna 30 m. × 0,25 mm. i.d. × 25 µm SPB5.

Insectos

Para los experimentos se utilizaron adultos de *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae), *Rhyzoperta dominica* Fabricius (Coleoptera: Cucujidae) y *Cryptolestes pusillus* Schönherr (Coleoptera: Cucujidae). Los dos primeros se mantuvieron sobre un sustrato de granos de arroz. El último sobre una dieta de harina blanca de trigo y levadura de cerveza al 5%. Todas las crías, en el interior de una cámara de cultivo a temperatura constante de 30 °C y oscuridad.

Bioensayos

Actividad volátil y por contacto

Toxicidad volátil (15 ml)

Los aceites puros se aplicaron a dosis de 10 µl ó 1 µl a discos de papel de filtro de 2 cm. de diámetro colocados en el interior de un vial de cristal de 4 ml de volumen coloca-

do a su vez en el interior de otro vial de mayor tamaño (15 ml), tapado con tapón de rosca, junto con 10 insectos de la especie a ensayar. En el caso de *R. dominica* y *C. pusillus* no hubo contacto entre el disco donde se había aplicado el producto y los insectos, dada la escasa movilidad de éstos. Para *S. oryzae* se ensayaron dos situaciones, una como la descrita, en donde se producía un contacto entre los insectos y el disco y otra en la que se evitaba el contacto cubriendo la parte superior del vial de 4 ml con tela de visillo. Se realizaron 3 repeticiones para cada plaga y aceite esencial. El control se realizó de la misma manera pero sin la aplicación de aceites esenciales. El experimento se llevó a cabo a T.^a ambiente, anotando la mortalidad a las 2 h. y 24 h.

Toxicidad volátil (100 ml)

Para este experimento se utilizaron botes de cristal con tapón de rosca y mayor volumen (100 ml). Se aplicaba 1 µl de aceite esencial a discos de papel de filtro de 2 cm. de diámetro colocados en el interior de los botes junto a 10 insectos y con dos opciones: sin arroz o con 5 g. de arroz. Para el control se procedió de la misma manera pero sin la aplicación de aceite. Se realizaron 5 repeticiones por aceite, se trabajó a T.^a ambiente y transcurridas 24 h. se anotó la mortalidad.

Actividad por contacto

Se eligieron los aceites de alcarabea, que es rico en carvona, y los de dos poblaciones de albahaca, uno rico en metil chavicol (OB10) y otro con mezcla de linalol y metil chavicol (OB25). Se añadieron 10 µl de aceite puro a 100 µl de acetona (solo disolvente en el control) y se agitó mezclándolo en un vial de cristal de 15 ml relleno de arroz, después se volcó sobre papel de filtro y se dejó evaporar el disolvente durante 5 min. Posteriormente, se colocó el arroz en el interior de los viales de 15 ml junto a 10 insectos de *S. ory-*

zae o *R. dominica*. Se realizaron 5 repeticiones de cada tratamiento, se dejaron los botes a T.^a ambiente y transcurrido 1 mes se anotaba la mortalidad y transcurridos 2 meses se calculaban los daños producidos por la generación de gorgojos emergentes a partir de la fórmula:

$$P(\%) = [UaN - (U+D)]/UaN \times 100$$

siendo, Ua = peso medio de 1 grano de arroz sin dañar, N = número total de granos de arroz, U = peso de fracción sin dañar y D = peso de fracción dañada. Los datos se resumieron como valores medios y se compararon tratamientos y control por medio del test T.

Actividad repelente

Para estimar este tipo de actividad se ha utilizado una adaptación del bioensayo puesto a punto por MOHAN y FIELDS (2002). Consiste en un tarro de plástico de forma cilíndrica (7 cm. de diám. × 10 cm. de altura) perforado con orificios de 2 mm., en la base y los laterales, dentro del mismo hay 200 g de arroz tratado con el aceite a ensayar. El tarro va colocado sobre un vaso de cristal y todo a su vez en una placa petri (impregnada en el borde con teflón) para recoger los insectos que abandonan el tarro, tanto lateralmente como por la base. El arroz cáscara (200 g.) se trata con 100 µl de aceite esencial añadido a 1 ml de acetona (solo disolvente para el control). Se mezcla por agitación durante 5 min. y después se deja evaporar el disolvente durante 1 h. antes de meter el arroz en el bote. Con ayuda de un embudo, se añaden 20 insectos en el centro del tarro relleno de grano. Se realizaron 3 repeticiones y transcurridas 24 h. se anotaba el n.º de insectos que abandonaban el grano. Los datos se resumieron como valores medios y para las comparaciones de los tratamientos con el control se utilizó el test T. El experimento se llevó a cabo en el interior de cámaras a una T.^a de 27 °C constante y con un fotoperiodo de 16:8.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 vemos que los aceites esenciales no tienen efecto volátil sobre el gorgojo del arroz, *S. oryzae*, aunque sí causan mortalidad por contacto. Los más activos a 1 µl fueron alcarabea (80% mortalidad) y las poblaciones de albahaca OB9 (76,6%), OB17 (96,7%) y OB25 (80%). Si nos fijamos en la composición de estos aceites (Cuadro 2) llegamos a la conclusión de que la carvona y el metil chavicol son productos con actividad por contacto.

Por el contrario, la mayoría de los aceites manifestaron toxicidad volátil en el capuchino (*R. dominica*) y la carcoma achata de los granos (*C. pusillus*) tal y como indican los frecuentes valores de 100% de mortalidad (Cuadro 1). En *C. pusillus* todos los aceites tienen acción volátil a las 24 h aunque los más activos a corto plazo (2 h.) y a menores dosis (1 µl) fueron OB21 (90% mortalidad), alcarabea (76,6%), OB17 (70%), OB12 (56,7%) y coriandro (56,7%). En *R. dominica* sucede algo parecido pero en comparación es algo menos sensible a los aceites, destacando OB20, OB24, OB38 y OB46 como los más activos. Si analizamos los compuestos mayoritarios de estos aceites (Cuadro 2) llegamos a la conclusión de que el linalol, las mezclas linalol + metil chavicol y la carvona manifiestan actividad volátil.

BEKELE *et al.* (1997) también han citado que las especies de *Sitophilus* son más resistentes que las de *Rhyzopertha* frente a este tipo de sustancias naturales.

En la Figura 1 podemos observar que la actividad volátil también depende del volumen del recipiente y de la presencia del producto almacenado. Por ejemplo, con alcarabea se pasa del 60 al 6% de mortalidad y con OB17 del 30 al 16% en el caso de *C. pusillus* y efectos similares se pueden observar para la gráfica de *R. dominica*. A mayor volumen y en presencia de arroz se disminuye la efectividad posiblemente por absorción de los vapores en el arroz.

Cuadro 1.—Toxicidad volátil y por contacto (viales de 15 ml) de aceites esenciales (n = 3 con 10 insectos por repetición)

Aceite ¹	Dosis (µl)	Mortalidad (%) 24h en <i>S.oryzae</i>		Mortalidad (%) por acción volátil			
		contacto	volátil	<i>R. dominica</i>		<i>C. pusillus</i>	
				2 h.	24 h.	2 h.	24 h.
Alcarabea	10	100	0	26,7	100	33,3	100
	1	80	3,3	0	100	76,6	100
Coriandro	10	93,3	10	3,3	100	56,7	100
	1	50	6,7	13,3	100	56,7	100
OB8	10	60	0	20	80	0	100
	1	23,3	0	16,6	96,7	0	100
OB9	10	96,7	6,7	3,3	100	36,7	100
	1	76,6	3,3	0	50	13,3	100
OB10	10	63,3	0	0	66,7	63,3	100
	1	36,7	6,7	3,3	100	25	100
OB12	10	100	3,3	30	100	93,3	100
	1	53,3	6,7	36,7	53,3	56,7	100
OB16	10	96,7	0	13,3	100	60	100
	1	66,7	0	16,6	53,3	20	100
OB17	10	96,7	0	0	100	63,3	100
	1	96,7	3,3	0	66,7	70	100
OB20	10	6,7	10	43,3	100	30	100
	1	56,7	3,3	46,7	53,3	16,7	100
OB21	10	83,3	0	3,3	100	30	100
	1	40	0	3,3	93,3	90	100
OB24	10	46,7	0	83,3	90	10	100
	1	13,3	0	63,3	63,3	30	100
OB25	10	96,7	0	16,7	100	46,7	100
	1	80	0	33,3	86,7	6,7	100
OB38	10	50	3,3	66,3	93,3	0	100
	1	10	0	33,3	46,7	0	100
OB43	10	83,3	0	10	100	33,3	100
	1	56,7	0	16,6	63,3	43,3	100
OB46	10	63,3	0	60	100	46,7	100
	1	6,7	0	70	70	6,7	100
Control		0	0	0	0	0	0

¹ OB = distintas variedades de albahaca.

Los tratamientos directos con aceite al arroz resultan positivos. Por ejemplo, las aplicaciones de OB10 (metil chavicol) dan lugar a mayor mortalidad del gorgojo del arroz y a una menor pérdida de peso del arroz en comparación con el control (Cuadro 3). El capuchino es más sensible y todos los tratamientos son tóxicos por contacto. Convendría probar que los tratamientos por contacto no dejan residuos ni afectan a la calidad del arroz para que resultaran aceptables por parte del consumidor.

En el Cuadro 4 podemos ver los resultados del ensayo de repelencia. Estadísticamente ningún aceite resulta repelente para *S. oryzae* aunque parece que hay más insectos que aban-

donan el grano si se trata con OB9 y OB10 (metil chavicol). Por el contrario, según el test T, algunos tratamientos con aceites ricos en linalool o con mezclas de linalol y metil chavicol resultan repelentes para *R. dominica* y *C. pusillus* respectivamente.

OBENG-OFORI *et al.*, (1997 y 1998) han asociado la actividad de *Ocimum* al cineol, eugenol y metil chavicol. No obstante, los resultados de nuestro trabajo apuntan a que el metil chavicol, el linalol y su mezclas pueden ser también las materias activas. Sería recomendable que en el futuro aislarámos dichos compuestos para probarlos por separado o con mezclas de composición definida.

Cuadro 2.-Principales compuestos aromáticos (%) en los aceites esenciales

Especie	Limoneno	Linalol	Metil chavicol	Geraniol	Geranial	Eugenol	Metil eugenol	Carvona
Alcarabea	27,8							62,8
Coriandro		69,6					19,6	
OB8	9,6	21,7	24,8	1,8	1,1	0,7		
OB9			93,8			1,3		
OB10			95,7			0,7		
OB12	0,9	25,4	46	6,2		0,9		
OB16	2,7	22,8	54,1	2,8				
OB17	1,7		85,9	3,5				
OB20	4,9	33,5	28,2	4,8		2,0		
OB21	2,5	10,6	75,1	2,0				
OB24	1,9	28,7	12,3	13,2	3,3	12,1		
OB25	4,5	31,3	35,8	4,5	1,3	6,0		
OB38		38,9	15,7					
OB43	3,3	7,8	63	1,6	1,3			
OB46	9,4	43,5	5,5			0,7		

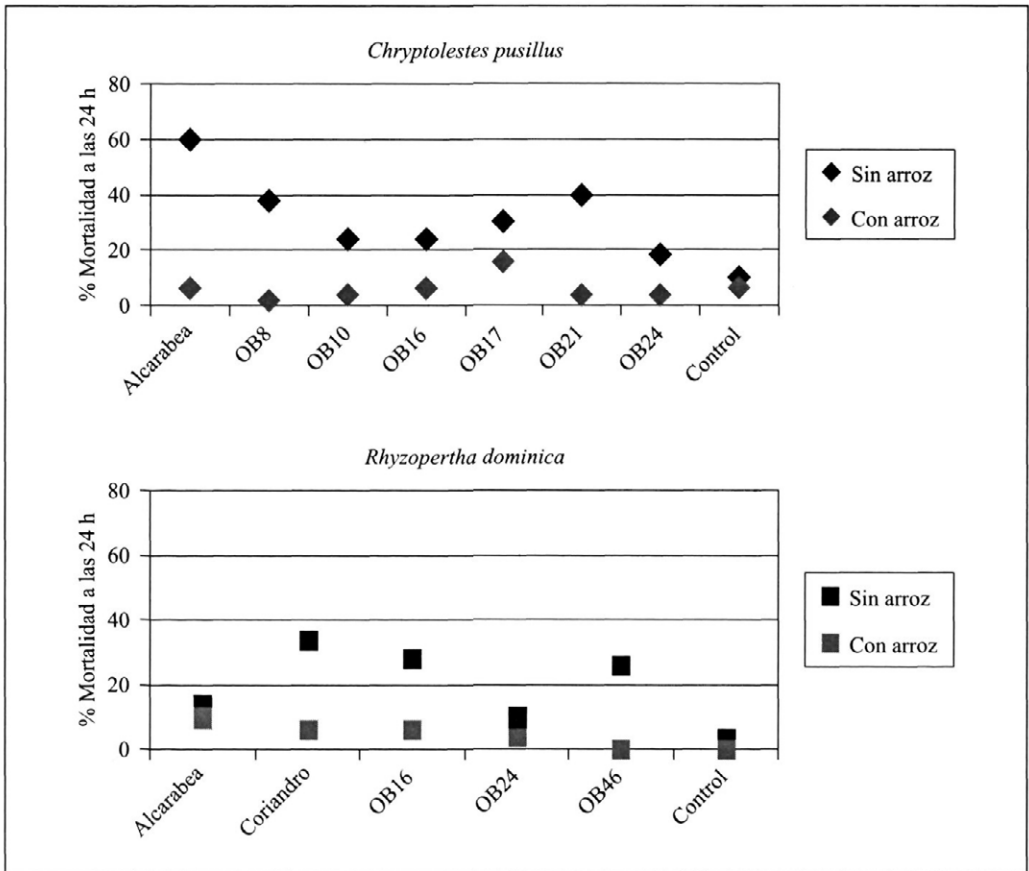


Figura 1: Toxicidad volátil de aceites esenciales a dosis de 1 µl / 100 ml de volumen (n = 5 con 10 insectos por repetición).

Cuadro 3.--Actividad por contacto: tratamientos con aceites esenciales (10 µl) al arroz (n = 5 con 10 insectos por repetición y en viales de 15 ml)

Plaga	Aceite	Mortalidad (%) ¹		Pérdida peso arroz (%) ²	
		Media	Test T	Media	Test T
<i>S. oryzae</i>	Alcarabea	44 ± 13,3	2,74 *	1,8 ± 1,83	1,95 ns
	OB10	36 ± 6	4,16 **	0,5 ± 0,52	3,83 **
	OB25	8 ± 3,7	0,37 ns	1,4 ± 0,46	3,29 *
	Control	6 ± 4		6,4 ± 1,43	
<i>R. dominica</i>	Alcarabea	54 ± 6,8	6,93 ***	0 ± 0	1,58 ns
	OB10	84 ± 9,3	8,34 ***	0,0006 ± 0,0006	1 ns
	OB25	36 ± 6,8	4,44 **	0,004 ± 0,004	0,48 ns
	Control	4 ± 2,5		0,002 ± 0,0013	

¹ Mortalidad a los 28 días; Test T para la comparación de tratamientos con el control: * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001, ns = no significativo.

² Pérdida de peso a los 60 días (en muestras de 100 g de arroz) debida a los daños directos de los gorgojos emergentes: P(%) = [UaN - (U + D)]/UaN × 100 siendo, Ua = peso medio de 1 grano de arroz sin dañar, N = n.º total de granos de arroz, U = peso de fracción sin dañar y D = peso de fracción dañada.

Cuadro 4.--Actividad repelente (24 h): tratamientos con aceites esenciales (100 µl) al arroz cáscara (n = 3 con 20 insectos por repetición y botes de 250 ml)

Especie	Tratamiento	Insectos que abandonan el grano (%)		
		Dosis de aceite por 200 g de arroz		
		0 µl	100 µl	Test T
<i>S. oryzae</i>	Alcarabea	19,3 ± 0,33	18 ± 1,6	1,11 ns
	OB9	5 ± 2,3	9 ± 2,9	1,08 ns
	OB10	5 ± 2,3	9,7 ± 2,33	1,42 ns
	OB17	19,3 ± 0,33	19 ± 0,6	0,5 ns
	OB25	19,3 ± 0,33	16 ± 1,5	2,13 ns
<i>R. dominica</i>	Alcarabea	2,7 ± 0,33	9,3 ± 1,86	3,54 *
	Coriandro	2,7 ± 0,33	5,7 ± 0,88	3,18 *
	OB16	4,7 ± 0,88	3,7 ± 1,45	0,59 ns
	OB24	4,7 ± 0,88	9 ± 1	3,25 *
	OB46	2,7 ± 0,33	7,3 ± 0,89	4,95 **
<i>C. pusillus</i>	Alcarabea	4,3 ± 1,33	9,7 ± 1,67	2,5 ns
	OB8	4,3 ± 1,33	16 ± 1	7,0 **
	OB10	4,3 ± 1,33	13,3 ± 2,91	2,8 *
	OB16	4,3 ± 1,33	13,3 ± 1,45	4,6 *
	OB17	4,3 ± 1,33	10 ± 1,53	2,8 *
	OB21	4,3 ± 1,33	11,7 ± 1,2	4,04 *
	OB24	4,3 ± 1,33	12,7 ± 0,33	6,06 **

¹ Test T para la comparación de los tratamientos con el control: * p < 0,05, ** p < 0,01, ns = no significativo.

CONCLUSIONES

El aceite de alcarabea (carvona) manifiesta actividad por contacto y volátil con efectividad para diversas plagas de almacén.

No se obtuvo acción repelente ni toxicidad volátil para el gorgojo del arroz con ninguno de los aceites. Si bien, el metil chavicol que se encuentra en algunos tipos de albahaca dio lugar a mortalidad por contacto en esta plaga.

Contra el capuchino y la carcoma achata de los granos, los aceites que contienen

linalol (coriandro y albahaca) o mezclas linalool y metil chavicol (algunos tipos de albahaca) dan lugar a toxicidad volátil y/o repelencia.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la ayuda de M.A. Fernández y R. Corral en los bioensayos. Este trabajo ha sido financiado por el INIA con el proyecto RTA01-024.

ABSTRACT

PASCUAL-VILLALOBOS M. J., M. C. BALLESTA-ACOSTA, A. SOLER. 2004. Toxicity and repellency of essential oils against stored rice pests. *Bol. San. Veg. Plagas*, **30**: 279-286

Pests can cause damage and quality losses in stored products. In our current search to find organic alternatives for pest control, essential oils of coriander, caraway and basil were tested in the laboratory against *Sitophilus oryzae* L., *Rhyzoperta dominica* Fabricius and *Cryptolestes pusillus* Schönherr.

Caraway oil (rich in carvone) and methyl chavicol basil types showed contact activity against the rice weevil, e.g. 100% mortality in 10 µl applications to filter paper disks or 44% mortality in rice applications with caraway oil.

The lesser grain borer and flat grain beetles were easier to kill, being all product vapours active although those with mixtures of linalol and methyl chavicol were specially effective 2 h. after applications. Also paddy treatments with the oils were repellent and between 2 and 4 times more insects left the grain in comparison with the untreated control.

Key words: *Sitophilus oryzae*, *Rhyzoperta dominica*, *Cryptolestes pusillus*, *Carum carvii*, *Coriandrum sativum*, *Ocimum basilicum*, carvone, methyl chavicol, linalool, rice.

REFERENCIAS

- BEKELE, A.J.; OBENG-OFORI, D. y HASANALI, A., 1997: Evaluation of *Ocimum kenyense* as a source of repellents, toxicants and protectants in storage against three major stored product insect pests. *Journal of Applied Entomology*, **121** (3): 169-173.
- DIEDERICHSEN, A., 1996: Coriander (*Coriandrum sativum* L.). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 3. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research. Gatersleben IPGRI, Roma, Italia.
- MOHAN, S.; FIELDS, P.G., 2002: A simple technique to assess compounds that are repellent or attractive to stored product insects. *Journal of Stored Products Research*, **38**: 23-31.
- OBENG-OFORI, D.; REICHMUTH, C.H.; BEKELE, A.J. y HASANALI, A., 1997: Biological activity of 1,8-cineole, a major component of essential oil of *Ocimum kenyense* against stored product beetles. *Journal of Applied Entomology*, **121** (4): 237-243.
- OBENG-OFORI, D.; REICHMUTH, C.H.; BEKELE, A.J. y HASANALI, A., 1998: Toxicity of protectant potential of camphor, a major component of essential oil of *Ocimum kilimandscharicum*, against four stored product beetles. *International Journal of Pest Management*, **44**(4): 203-209.
- OOSTERHAVEN, J., 1995: Different aspects of S-carvone, a natural potato sprout growth inhibitor. Thesis Landbouwniversiteit Wageningen, Holanda.
- PASCUAL-VILLALOBOS, M.J. y BALLESTA-ACOSTA, M.C., 2003: Chemical variation in an *Ocimum basilicum* germplasm collection and activity of the essential oils on *Callosobruchus maculatus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **31**: 673-679.
- PASCUAL-VILLALOBOS, M.J. y DEL ESTAL, P., 2003: Plagas de almacén del arroz y enemigos naturales en Calasparra (Murcia). III Congreso Nacional de Entomología Aplicada, IX Jornadas Científicas de la SEEA, Ávila 20-24 Noviembre 2003.
- REGNAULT-ROGER, C. y HAMRAOUI, A., 1995: Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus*

- vulgaris* L.). *Journal of Stored Products Research*, **31**(4): 291-299.
- SHAAYA, E.; RAVID, U.; RUTER, N.; JUVEN, B.; ZISMAN, U. y PISSAREV, V., 1991: Fumigant toxicity of essential oils against four major stored product insects. *Journal of Chemical Ecology*, **17**(3): 499-506.
- SIMON, J.E.; MORALES, M.R.; PHIPPEN, W.B.; VIEIRA, R.F. y ZAO, Z., 1999: Basil: a source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb. En: Janick, J. (ed): *Perspectives on New Crops and New Uses*. ASHS Press, Alexandria, VA, EE.UU., pp. 499-505.
- TRIPATHI, A.K.; PRAJAPATI, V.; AGGARWAL, K.K. y KUMA, S., 2000: Effect of volatile oil constituents of *Mentha* species against the stored grain pests, *Callosobruchus maculatus* and *Tribolium castaneum*. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, **22** (1B): 549-556.

(Recepción: 13 enero 2004)

(Aceptación: 11 mayo 2004)